

N^o D'ORDRE : 55

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

ISABELLE GARCIA

LICENCIÉE ÈS-SCIENCES

DOCTEUR EN PHARMACIE

ASSISTANTE AU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE

DE LA FACULTÉ MIXTE DE PHARMACIE ET DE MÉDECINE DE MARSEILLE

1^{re} Thèse. — Recherches sur l'ossification.

2^{me} Thèse. — Propositions données par la Faculté :
Les mutations.

Soutenues le

devant la Commission d'examen.

MM. GODECHOT, *doyen, président*

CRISTOL P., *professeur Faculté de Médecine*

MATHIAS, *maître de conférences*

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

G. PATISSIER

1935

RECHERCHES SUR L'OSSIFICATION

N^o D'ORDRE : 55

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

ISABELLE GARCIA

LICENCIÉE ÈS-SCIENCES

DOCTEUR EN PHARMACIE

ASSISTANTE AU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE

DE LA FACULTÉ MIXTE DE PHARMACIE ET DE MÉDECINE DE MARSEILLE

1^{re} Thèse. — Recherches sur l'ossification.

2^{me} Thèse. — Propositions données par la Faculté :
Les mutations.

Soutenues le

devant la Commission d'examen.

MM. GODECHOT, *doyen, président*

CRISTOL P., *professeur Faculté de Médecine*

MATHIAS, *maître de conférences*

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

G. PATISSIER

1935

A MES PARENTS

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS



A MES MAÎTRES

MADAME LE DOCTEUR ANDRÉE ROCHE

MONSIEUR LE PROFESSEUR JEAN ROCHE

A MON JURY DE THESE

AVANT-PROPOS

Il nous est difficile d'exprimer tout ce que nous devons à ceux qui nous ont permis de mener à bien cette tâche. Pendant les quatre années que nous avons consacrées au travail que nous présentons aujourd'hui, les conseils éclairés et les encouragements n'ont pas cessé de nous être prodigués.

A nos Maîtres, Madame Roche et Monsieur le Professeur Roche, nous devons le plus sûr de notre éducation scientifique. Ils ont eu pour nous toutes les sollicitudes et toutes les bienveillances. Qu'il nous soit permis de leur exprimer ici notre respectueuse affection. Le temps que nous avons passé à leurs côtés nous a marquée d'une empreinte profonde, empreinte qui marquera tous ceux qui auront l'avantage de poursuivre auprès d'eux des recherches auxquelles ils consacrent toute leur énergie et tout leur enthousiasme, et dont la persistance sera la garantie de notre fidèle attachement.

A Monsieur le Professeur Moitessier, qui nous a fait l'honneur de nous nommer assistante dans son service, nous exprimons ici nos remerciements respectueux.

Si les recherches exposées au cours de cet ouvrage ont été faites au Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marseille, c'est à la Faculté des Sciences de Montpellier que nous avons l'honneur d'être jugée. Nous avons demandé à Monsieur le Doyen Godechot de bien vouloir présider notre thèse. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de nos remerciements pour l'honneur qu'il nous a fait en l'acceptant. Il a manifesté par là l'estime en laquelle il tenait son ancien élève, Monsieur le Professeur Roche.

Que Monsieur le Professeur Cristol veuille bien croire à notre reconnaissance pour l'intérêt et la bienveillance qu'il nous a témoignés en acceptant de proposer notre thèse à la Faculté des Sciences de Montpellier.

Dès le début de nos recherches, Monsieur le Professeur Cotte a manifesté le plus vif intérêt pour nos projets. Les circonstances n'ont pas permis qu'il soit notre juge. Nous lui exprimons ici nos regrets et notre profonde reconnaissance.

Nous terminons en adressant à nos camarades de laboratoire notre fidèle souvenir et nos sentiments de cordiale amitié.

I. G.

Introduction

L'étude de l'ossification est un domaine qui, longtemps, a été réservé aux histologistes et physiologistes.

Si leurs recherches, jusqu'ici, n'ont pas permis de résoudre les problèmes intimes de l'ostéogénèse, elles ont apporté cependant des données précises sur la morphologie et la formation du tissu osseux.

L'étude chimique, au contraire, a eu peu de portée à ce point de vue; elle se fait d'une façon brutale, après destruction de l'os et donne la composition d'un ensemble : travées osseuses et espaces demeurés conjonctifs. En outre, l'étude de la composition chimique du squelette s'est bornée à l'étude des sels, les chimistes n'accordant qu'un intérêt restreint à la partie protéique de l'os. En tous cas, lorsqu'ils ont étudié celle-ci, ils l'ont envisagée indépendamment de la matière minérale.

L'exposé de la composition chimique et de l'organisation du squelette, celui du rôle actif qu'il joue au cours du métabolisme, nous montreront l'intérêt qu'il y aurait à envisager une étude simultanée de la base protéique de l'os et du complexe minéral, et de contribuer à donner un sens aux divergences si nombreuses, provoquées par le problème des complexes minéraux de l'os.

I. — COMPOSITION CHIMIQUE DE L'OS

L'os brut présente la composition moyenne suivante :

Eau	50 %
Graisse	15,75 %
Osséine	11,40 %
Sels calcaires	22,85 %

L'os sec et dégraissé renferme :

Osséine et corps protéiques	30 %
Matières minérales	70 %

Deux problèmes chimiques essentiels doivent donc être envisagés : celui de la partie protéique de l'os et celui du complexe minéral.

A. — ÉTUDE DE LA PARTIE PROTÉIQUE

Si on abandonne un os pendant plusieurs semaines dans un acide dilué, on dissout le complexe phosphocalcaire et on obtient une sorte de « modèle mou » de l'os, modèle d'osséine, à l'intérieur duquel se trouve la moelle.

Cette osséine comprend : d'une part, la matrice conjonctive, celle des travées osseuses et des espaces conjonctifs ; d'autre part, la matière protéique qui forme

les travées préosseuses. Au point de vue chimique, rien n'a pu les distinguer l'une de l'autre ; on ne connaît que la composition globale d'un complexe anatomique, pour lequel il y a lieu d'envisager : d'une part, l'osséine ; d'autre part, l'osséomucoïde et l'osséoalbuminoïde.

a) OSSÉINE.

C'est une substance translucide et élastique qui a la propriété de se transformer en gélatine quand on la chauffe sous pression à 90°. Elle est soluble dans un mélange d'acide formique et d'alcool chlorhydrique. Sa composition élémentaire est la suivante :

C	=	50 %
H	=	2 %
N	=	18 %
S	=	0,7 %

L'alcool absolu précipite de cette solution un collagène qui, d'après Ferrand (1), serait spécifique de chaque espèce.

C'est sur la variabilité de la teneur en azote du collagène, donc de l'osséine, que Ferrand base son hypothèse de la spécificité de cette substance.

L'azote, seul élément que nous étudierons, provient des acides aminés qui constituent la molécule d'osséine. Après transformation de celle-ci en gélatine, on obtient par hydrolyse, du glyocolle (16 %), de la proline (5,2 %), de l'oxyproline (3 %), de la leucine (2,1 %), de la valine (1 %), de l'alanine (0,8 %), des

acides diaminés (10,7 %), enfin, les acides aspartique et glutamique (1,4 %) et de la phényl-alanine (0,4 %).

b) OSSÉO-MUCOÏDE ET OSSÉO-ALBUMINOÏDE.

Ce sont deux protéines indépendantes de l'osséine, plus pauvres en azote que celle-ci (12,58 % et 14,95 %).

L'hydrolyse acide de l'osséo-mucoïde en détacherait des polypeptides et un complexe hydro-carboné.

c) MOELLE OSSEUSE.

Elle est formée de tissu connectif lâche, de vaisseaux et de nerfs englobés dans la matière grasse. Par hydrolyse on en détache :

Un nucléoprotéide,
Une globuline,
Des traces d'une albumine coagulable à 70-75°,
De l'hypoxanthine,
De l'hémoglobine,
Des corps gras en proportions considérables (jusqu'à 96 %), où prédomine l'oléine.

La proportion d'azote relative à la moelle est donc minime comparativement à celle de l'osséine.

En définitive, le taux d'azote contenu dans les os longs est de 3 à 4 % du poids frais, de 6 à 8 % du poids sec.

B. — ÉTUDE DU COMPLEXE MINÉRAL

Si la composition chimique de la partie protéique des os est sensiblement établie, il n'en est plus de même de celle du complexe minéral.

Les controverses ont leur source même dans les différentes méthodes mises en œuvre, pour atteindre les dépôts phosphocalciques de l'os. Les techniques employées sont, en effet, des plus variées et particulières à chaque auteur. Nous n'en citerons que deux, l'une dite méthode par calcination, l'autre mise au point par Gabrielle en 1894 et qui conserve encore, à l'heure actuelle, les faveurs de certains chimistes.

Dans la méthode par incinération, l'os séché sous la trompe à vide ou à l'étuve à 100-105°, jusqu'à poids constant, est mis dans une capsule de platine et calciné au Bunsen ou mieux au four électrique. Cette méthode donne des résultats erronés en ce qui concerne le type des composés présents dans l'os : une partie du CO_2 des carbonates se dégage, tandis qu'une partie du carbone et du phosphore de la matière organique se convertissent respectivement en carbonates et en phosphates. Elle reste cependant pratique, étant donnée sa simplicité, pour l'établissement de la composition ionique des os.

La méthode de Gabrielle respecte l'intégrité des constituants minéraux de l'os, car elle permet de détruire préalablement la matière organique et d'éviter la décomposition des carbonates.

L'os nettoyé de ses parties molles : muscles, tendons, etc., est délipidé et chauffé avec une solution de potasse à 3 % dans le glycérol ; il est débarrassé ainsi de la matière organique. On le fait ensuite bouillir dans de l'eau distillée qui dissout la potasse tandis que le glycérol est extrait par de l'alcool à 95° bouillant et séché à 250° jusqu'à poids constant. On obtient ainsi un « modèle dur » formé par les constituants minéraux de l'os que l'on dose après dissolution dans de l'acide chlorhydrique.

Ces deux techniques ont permis de déterminer assez facilement la composition élémentaire de l'os ; aussi, les différentes données que l'on trouve dans la littérature sont-elles, dans ce cas, relativement homogènes.

a) COMPOSITION ÉLÉMENTAIRE DU COMPLEXE MINÉRAL.

L'analyse de Gabrielle rapportée par Hugounenq indiquée, en p. cent des cendres :

Ca	36,60	P	2,29
Mg	0,462	Cl	0,01
K	0,13	F	0,03
Na	0,38	CO ²	0,01

Plus récemment Howland et Kramer (2-3) ont donné, en pour cent de substance fraîche, la composition suivante :

CO ²	3,25
Mg	0,3
Ca	20,1
P	9,1

Enfin, Morgulis (4) sur différents os secs trouve :

Ca 35,54 à 37,24 %

P 14,88 à 16,97 %

CO² $\left\{ \begin{array}{l} 4,58 \text{ à } 5,71 \% \text{ (chez les Vertébrés} \\ \text{terrestres).} \\ 2,75 \text{ à } 3,25 \% \text{ (chez les Vertébrés} \\ \text{marins).} \end{array} \right.$

La composition élémentaire du complexe minéral de l'os est remarquablement constante, quelles que soient sa forme et son origine. Il a été relativement aisé aux chimistes de se mettre d'accord sur cette composition élémentaire du complexe minéral des os, mais la discussion reste ouverte, en ce qui concerne le type des composés présents et leur fixité. A l'heure actuelle, les polémiques sont en pleine effervescence.

b) NATURE DES CONSTITUANTS MINÉRAUX DE L'OS.

Les chimistes et les physico-chimistes ne sont d'accord ni sur les combinaisons phosphatiques, ni sur les combinaisons calciques qui constituent la substance minérale osseuse. Trouve-t-on le phosphore sous forme de phosphate tri ou monocalcique ? Trouve-t-on le calcium sous forme de carbonate de chaux ou d'hydrate de chaux ?

La solution de ces deux problèmes a suscité une première série de controverses.

1° *Forme sous laquelle se trouve le phosphore dans l'os.*

Holt, La Mer et Chown (5-6) et de nombreux autres auteurs, sur les expériences desquels nous reviendrons

par la suite, confirment l'existence de $(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^2$ dans l'os. Le rapport qui existe entre le calcium et le phosphore étant toujours exactement celui requis pour ce sel.

Cependant, Shear et Kramer (7-8) ont prétendu que le phosphate de calcium était du phosphate monocalcique. En effet, quand des solutions contiennent des ions $\text{PO}^4=$ et Ca^{++} mélangés, le précipité qui se forme est d'abord PO^4HCa ; ce n'est qu'ensuite que ce précipité se modifie spontanément en se transformant en $(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^2$.

Toutefois, leurs propres expériences tendent à infirmer leur hypothèse primitive. En effet, d'après eux, le rapport entre le « Ca résiduel » (celui combiné au phosphore) et le phosphore égale 1,99 — valeur très voisine de celle calculée à partir du phosphate tricalcique — tandis que le rapport est de 1,29 pour le sel PO^4HCa .

Morgulis (4) donne un autre argument contre l'hypothèse de Shear et Kramer : si on avait du PO^4HCa dans l'os par incinération, on obtiendrait du pyrophosphate et ce n'est qu'après hydrolyse qu'il se formerait de l'orthophosphate ; or, celui-ci s'obtient directement.

Il n'y a donc aucune preuve en faveur du phosphate acide et, à l'heure actuelle, il est généralement admis que dans l'os une partie du calcium se trouve combiné au phosphore sous forme de phosphate tricalcique.

2° Forme sous laquelle se trouve la seconde fraction du calcium.

Les différents auteurs se demandent si on se trouve en présence de carbonate de calcium ou de chaux. Dès

1862, Hoppe Seyler affirmait l'existence de carbonate de calcium dans l'os. Depuis, Holt, La Mer et Shown (5-6), Bogert et Hastings (9), etc., en Amérique, Gassman (10), en Allemagne, etc., admettent que tout le calcium non résiduel se trouve dans l'os sous forme de carbonate.

Klement (11), au contraire, pense que cette fraction existe à l'état de chaux. Son affirmation est basée, non seulement sur l'analyse chimique de la cendre d'os, mais sur l'expérience suivante : en agitant du phosphate monocalcique pur, solide, avec une solution tampon de carbonate de soude fréquemment renouvelée, la composition de la phase solide change rapidement, puis plus lentement. Après plusieurs semaines à 37°, il s'établit un équilibre lorsque la phase solide a la composition : $6(\text{PO}_4)^2\text{Ca}^3.\text{Ca}(\text{OH})^2$, appelée encore « phosphate semi-basique ». Si l'on agite du phosphate monocalcique avec une solution de bicarbonate de soude, on obtient un produit d'équilibre identique mais contenant une petite quantité de CO^2Ca .

L'opinion de Morgulis (4) coïncide avec celle de Klement quant à la présence de chaux dans l'os. Il base ses arguments sur les résultats d'analyse suivants :

1° En établissant la teneur en phosphate de magnésium et en carbonate de calcium, il trouve un excès de calcium non combiné.

2° En calculant le total des radicaux acides et celui des radicaux basiques, il constate qu'il y a un excédent de ce dernier.

3° Il trouve chez les Vertébrés marins un rapport .

$$\frac{(\text{PO}^1)^2\text{Ca}^3}{\text{CO}^3\text{Ca}} = 12$$

landis que chez les Vertébrés terrestres, il obtient :

$$\frac{(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3}{\text{CO}^3\text{Ca}} = 6,6$$

« Les Poissons, dit-il, ont peu de réserves de bicarbonates ; or, si le degré de concentration des divers constituants dans les humeurs peut régler la vitesse de formation ou la quantité de dépôts, il ne règle pas leur composition. »

Tels sont les différents arguments sur lesquels s'appuient encore actuellement les différentes théories.

A un autre point de vue, les biochimistes ont encore des opinions contradictoires. Pour les uns, les constituants phospho-calcaires existent dans l'os, sous la forme d'un composé stable et défini ; pour les autres, ils existent sous la forme d'un mélange dont la composition peut varier au cours de certaines conditions de vie.

c) THÉORIES SUR LA FORMATION DU COMPLEXE PHOSPHO-CALCAIRE DE L'OS.

Nous examinerons, successivement, les arguments en faveur des deux hypothèses émises.

1° *Les constituants phospho-calcaires de l'os sont engagés dans une combinaison stable.*

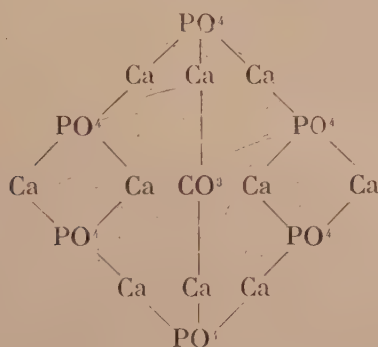
Les controverses se sont engagées à ce sujet, non seulement entre les chimistes eux-mêmes, mais entre les

chimistes et les physiciens. Nous passerons en revue les arguments d'ordre chimique et ceux d'ordre physique.

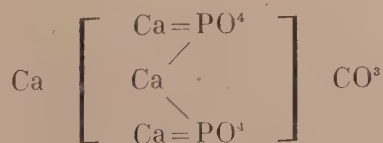
Arguments d'ordre chimique. — Hoppe Seyler (12) montra que les quantités relatives de phosphore et de calcium dans la cendre d'os étaient à peu près constantes et correspondaient étroitement à celles des phosphates naturels les plus importants :

Fluoro-apatite	$3\text{Ca}^3(\text{PO}^4)^2\text{CaF}^2$
Chloro-apatite	$3\text{Ca}^3(\text{PO}^4)^2\text{CaCl}^2$
Hydroxyapatite	$3\text{Ca}^3(\text{PO}^4)\text{Ca}(\text{OH})^2$
Oxyapatite	$3\text{Ca}^3(\text{PO}^4)\text{CaO}$
Carbonate-apatite	$3\text{Ca}^3(\text{PO}^4)\text{CO}^3$

et il alla même jusqu'à proposer la formule quelque peu fantaisiste suivante [d'après Robison (13)].

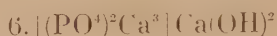


Gassman (10), lui, conclut à l'apatite et admet pour formule :



Bogert et Hastings (9) admettent la même formule correspondant à la carboxyapathite.

Morgulis (4) et Klement (11) considérant, entre autre, qu'il existe un rapport constant et égal à $1/6$ entre $\frac{(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3}{\text{excès de Ca}}$ proposent, nous l'avons vu, la formule suivante :



Arguments d'ordre physique. — Taylor et Shard (14) en 1929, comparant les indices de réfraction d'un certain nombre d'os séchés, avec ceux de minéraux connus, trouvent des indices voisins; leurs conclusions sont confirmées par l'étude de l'émail dentaire. En particulier, parmi les minéraux cristallins, deux d'entre eux, la dahlite ayant pour formule $\text{CO}^3\text{Ca}.2(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3$ et la podolite dont la formule est $\text{CO}^3\text{Ca}.3(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3$, ont le même indice que l'émail dentaire et l'os. Mais la dahlite ayant un rapport phosphate/carbonate voisin de celui trouvé dans l'os, les auteurs concluent à la présence de ce complexe au niveau du squelette.

Etudiant ensuite avec les mêmes fragments d'os les spectres de diffraction, ils confirment leurs précédentes conclusions et confirment, en outre, celles de Jong établies d'après les mêmes procédés. Il existe dans l'os de l'apathite; les divergences obtenues au cours de l'expérience sont dues à de petites quantités de composés magnésiens ou alcalins. La phase solide de l'os serait constituée de petits cristaux d'une apathite; il n'existe aucun argument pour la présence de PO^4HCa , même

sous forme de brushite, $\text{PO}^4\text{H}\text{Ca} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, laquelle n'existerait ni dans l'os normal, ni dans l'os pathologique.

En 1931, Rosebery, Hastings et Morre (15), reprenant, par les mêmes procédés, les études précédentes, concluent que :

— L'os a une structure cristalline qui est fondamentalement la même que celle des autres termes de la série des apathites.

— Puisque l'analyse chimique et l'analyse spectrographique concordent pour établir la similitude de l'os intact et de la dahlite, les sels de chaux de l'émail et de l'os peuvent être représentés par la formule :



où n est compris entre 2 et 3.

— Il n'y a aucun argument en faveur de la présence de $\text{PO}^4\text{H}\text{Ca}$ ou CO^3Ca libre dans l'os.

En somme, les auteurs, dont nous venons d'exposer les conclusions, s'ils s'accordent pour admettre la présence d'un complexe stable dans l'os, ne sont pas d'accord sur la nature de ce complexe. En outre, ces mêmes auteurs se heurtent à des faits dont ils ne peuvent nier l'évidence et qui établiraient au contraire que carbonates et phosphates de chaux forment un mélange variable au niveau de l'os.

*2° Les constituants phospho-calcaires de l'os
sont engagés dans un mélange de composition
chimique variable.*

Les partisans de cette théorie se basent, pour défendre leur point de vue, sur les différences que l'on ob-

serve dans la composition de l'os au cours de l'âge des animaux et à la suite des différents régimes auxquels on les soumet.

Variations du complexe phospho-calcaire de l'os avec l'âge de l'animal. — Les travaux de Shear et Kramer (8) offrent à ce sujet une grande précision. Ils ont établi, en effet, que si chez le jeune Rat l'os présente un rapport Ca résiduel/P égal à 2,23, ce rapport chez l'adulte est de 1,99. Chez l'animal jeune, le calcium combiné au carbonate constitue de 8 à 10 % du calcium total ; chez l'animal adulte il constitue les 15 %. Avant eux, Holt, La Mer et Shown (6), Hugounenq (16) montrèrent que l'os embryonnaire contient peu de carbonate : c'est sous forme de phosphate que se dépose surtout le calcium dans l'os jeune.

Variations du complexe phospho-calcaire de l'os avec le régime. — Ces modifications ont été mises en évidence, grâce à l'expérimentation et cela d'une façon magistrale par les savants américains, anglais, allemands.

Nous passerons rapidement sur les résultats quantitatifs tels que ceux relatifs à la teneur en cendres des os qui se révèle un test précieux pour l'étude de l'évolution du rachitisme expérimental. Nous nous étendrons davantage sur les résultats d'ordre qualitatif.

En 1893, Gusmitta (17) notait une modification du rapport de l'os à la suite de l'inanition ; depuis l'évolution de l'étude sur le rachitisme, les observations se sont multipliées.

En 1926, Howland, Mariott et Kramer (18) ont noté une diminution du rapport $\frac{(\text{PO}_4)^2\text{Ca}^3}{\text{CO}_3\text{Ca}}$ chez l'enfant et le Rat rachitiques.

En 1928, Shear et Kramer (8) montrent que, même après guérison des lésions rachitiques, le rapport $\text{CO}_3\text{Ca}/\text{Ca}$ total, d'une part, et celui Ca résiduel/ P d'autre part, n'atteignent pas les valeurs de l'os normal et cela quel que soit l'agent anti-rachitique employé.

En 1931, Neal, Palmer et leurs collaborateurs (19) ont obtenu un abaissement de ces rapports chez les Ruminants nourris avec un régime pauvre en phosphore et en calcium.

A la même époque, Mac Clure et Mitchell (20) montrent, entre autre, que l'ingestion de fluorures ajoutés à la ration aux doses de 0,3 à 0,6 % de fluor détermine une diminution du taux de calcium, tandis que celui du phosphore ne varie pas.

Enfin, récemment (1934), Brooke, Smith et Smith (21) ont soumis des Rats pendant 90 jours à un régime pauvre en sels. Ils notent une diminution du taux du calcium, du phosphore et du CO_3 qui passent respectivement de 30,4 %, 19,2 % et 3,75 % chez les Rats normaux à 17,56 %, 8,49 % et 1,84 % chez les Rats carencés ; en outre, le rapport $(\text{PO}_4)^2\text{Ca}^3 / \text{CO}_3\text{Ca}$ est, chez ces derniers, de 3,28 contre 2,52 chez les Rats normaux. Ce fait implique que la perte de calcium subie au cours de l'expérience est supportée davantage par les carbonates que par les phosphates.

Parallèlement aux expériences de Brooke et de ses collaborateurs en Amérique, Mareck, Wellman et

Urbanyi (22) poursuivaient des recherches du même ordre en Allemagne. Ces auteurs ont analysé les trois couches concentriques (externe, médiane, et prémédullaire), d'humérus, fémurs et tibias de Porcelets recevant une ration de base soit seule (Lot I), soit additionnée de vitamine D (Lot II), ou d'un excès de base (20 gr. de carbonate de chaux) (Lot III), ou de radicaux acides (8 gr. de phosphate monosodique) (Lot IV). Les deux derniers régimes sont fortement rachitigènes. Lorsqu'un rachitisme sévère s'était installé, ils ont sacrifié tous les animaux simultanément et ont analysé leurs os. Les valeurs des rapports $(\text{PO}_4)^2\text{Ca}^3/\text{CO}_3\text{Ca}$, $(\text{PO}_4)^2\text{Mg}^3$ étaient les suivantes :

	<i>Couche externe</i>	<i>C. moyenne</i>	<i>C. interne</i>
Rég. norm. .			
+ vit. D. . . .	10/4,47/0,36	10/5,2/0,39	10/5,02/0,34
Rég. normal. .	10/4,74/0,36	10/5,25/0,42	10/4,99/0,33
R. alcalosique	10/6,63/0,28	10/6,25/0,29	10/5,51/0,27
R. acidosique	10/5,68/0,34	10/5,24/0,35	10/4,49/0,32

Comme on le voit, le rapport du phosphate au carbonate n'est pas constant ; « ces deux combinaisons calcaïques, disent-ils, ne sont donc pas contenues dans l'os, sous la forme d'un composé défini, comme l'apatite, par exemple. Par ailleurs, il est remarquable que la partie extérieure de l'os subit, lorsque l'animal est soumis à divers régimes, des variations de composition beaucoup plus considérables que les autres. Dans les diverses zones de l'épaisseur de l'os, le taux du phosphore est d'autant plus élevé qu'on se rapproche de la

moëlle, tandis que la couche médiane est plus riche en Ca, Mg et CO^2 . La fraction de Ca non combinée à PO^4H^3 correspond aux erreurs expérimentales près à celle présente dans CO^3Ca , calculé, d'après la teneur en CO^2 de l'os ; il est donc probable que tout le calcium osseux n'existant pas dans $(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3$ est contenu dans CO^3Ca . Par ailleurs, si on soustrait le calcium et le phosphore de CO^3Ca et de $(\text{PO}^4)^2\text{Mg}^3$, le rapport Ca/P du résidu correspondant à celui de $(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3$. Toutes ces données concourent à démontrer que le phosphate tricalcique et le carbonate de chaux existent dans l'os à l'état de mélange et non de combinaisons stables et définies. »

Que devons-nous penser de tant de résultats contradictoires ? Nous sommes obligés de nous incliner devant la précision de ces recherches. Pouvons-nous cependant rester indifférents aux résultats des Gassmann, Klement, Morgulis et tant d'autres ? Ne devons-nous pas, devant la garantie offerte par les méthodes physiques, admettre également les conclusions de Jong, Taylor, Bogert, etc. ?

Au lieu de rejeter l'une ou l'autre des deux conceptions, ne faudrait-il pas essayer de concilier ces faits si divergents ? La présence d'un composé stable, constituant le tissu osseux fondamental, ne serait pas incompatible avec celle de dépôts minéraux labiles et de composition variable. Ces dépôts jouant le rôle de réserves seraient susceptibles d'être utilisés par l'organisme au moment de ses besoins.

Nous nous excusons de la longueur donnée à cette dernière étude sur la composition des constituants mi-

néraux de l'os. Il nous a cependant semblé utile de le faire, non pas seulement pour l'intérêt documentaire qu'elle peut présenter, mais surtout parce que, au cours de nos expériences personnelles, nous avons pu remarquer des faits qui, à la lumière de toutes ces recherches, pouvaient trouver une explication.

Il nous reste maintenant à examiner comment s'organisent ces deux parties de l'os : matrice protéique et complexe phospho-calcaire, dont nous venons d'étudier la nature chimique.

II. — ORGANISATION DU SQUELETTE

Nous ne nous étendrons pas ici sur les problèmes de l'ostéogénèse, car nos expériences n'apportent, à ce sujet, aucun indice. Il se peut que la substance osseuse soit, suivant la théorie défendue par Dubreuil et l'Ecole bordelaise, un phénomène surtout cellulaire que commande l'ostéoblaste. Il se peut aussi, suivant la théorie défendue par Leriche et Policard (23-24), et qui semble chaque jour s'enrichir de faits nouveaux (25-26), qu'elle résulte d'un processus humoral dans lequel les cellules ne jouent qu'un rôle secondaire. Dans tous les cas, quelle que soit la théorie admise, l'évolution du squelette représenté, chez l'embryon, par des modèles car-

tilagineux, se fait suivant deux phénomènes distincts. L'un consiste dans l'accroissement suivi de dégénérescence du cartilage qui mène à la formation d'une matrice réticulaire, l'autre qui réside dans l'envahissement conjonctif de cette matrice et dans le dépôt de substance osseuse à son contact.

Le cartilage s'accroît tout d'abord, par suite d'une sorte de gonflement interstitiel de sa propre substance fondamentale (accroissement par intussusception). Ce tissu contient au début, de nombreuses cellules et peu de matière fondamentale, celle-ci augmente beaucoup plus vite que le nombre de cellules, lesquelles, tout en se multipliant, s'espacent peu à peu.

Le cartilage s'agrandit encore par formation à sa périphérie de nouvelles couches cartilagineuses (accroissement par apposition). Le tissu conjonctif qui entoure le cartilage, par une sorte de métaplasie centrifuge, s'imprègne progressivement de substance cartilagineuse.

A un moment donné, il se produit au centre de la pièce cartilagineuse une transformation consistant dans une hypertrophie dégénérative et une trabéculatation de la substance fondamentale. Dans la substance fondamentale homogène, des travées de condensation apparaissent, qui isolent des groupes de cellules cartilagineuses. Celles-ci se multiplient, gonflent et subissent une dégénérescence hypertrophique. Au niveau de ces groupes de cellules, la substance fondamentale est ramollie ; elle se condense, au contraire, dans les travées qui séparent ces amas cellulaires. Les cavités ainsi créées par la dégénérescence des cellules cartilagineu-

ses, s'ouvrent les unes dans les autres ; des vaisseaux sanguins et du tissu conjonctif les pénètrent, la substance fondamentale du cartilage présente alors un accroissement, une densification constituant contre les travées cartilagineuses (travées directrices), un ensemble de fibrilles. Dès lors, la matrice protéique est ménagée, prête à recevoir les dépôts minéraux. Comment s'effectuent alors ces dépôts, autrement dit, comment se fait la calcification ?

La calcification se fait, suivant Robison, en deux temps :

Dans un premier temps, la phosphatase dédouble les éthers phosphocalciques. Les phosphates sont libérés dans les humeurs interstitielles, qui se chargent de phosphates calciques insolubles.

Dans un deuxième temps, la substance préosseuse, qui imprègne les travées devant s'ossifier, adsorbe les sels calcaires inorganiques.

La libération des phosphates calciques insolubles dépend donc :

- 1° de la présence de phosphatase,
- 2° de la concentration de la lymphe en ions, phosphore et calcium.

On sait, en effet, que l'activité et la quantité de phosphatase des cartilages en voie d'ossification, sont supérieures à celles de l'os adulte ou du cartilage qui n'est pas voué à l'ossification (Robison, 13).

On sait, d'autre part, que, dans la lymphe périosseuse, il coexiste des ions PO_4^{3-} et Ca^{++} dissous et des molécules $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}^3$ précipitées.

A l'état normal, la concentration des ions et des mo-

lécules est constante. Les ions dissociés obéissent à la loi d'action de masse et leur dissociation peut s'écrire :

$$\frac{[(\text{PO}_4^{\equiv})^2] \times [(\text{Ca}^{++})^3]}{[(\text{PO}_4)_3\text{Ca}^2]} = K$$

Comme la fraction non dissociée est constante, on a :

$$[(\text{PO}_4^{\equiv})^2] \times [(\text{Ca}^{++})^3] = K'$$

Le produit K', ou produit de concentration, porte le nom de « produit de solubilité », si, comme c'est ici le cas, la phase liquide est en équilibre avec la phase solide ; c'est le produit de concentration qui correspond à la précipitation. Si le produit de concentration dépasse ou égale le produit de solubilité, la précipitation se fait. Si le produit de concentration est inférieur au produit de solubilité, la précipitation ne se fait pas (Charlin, 27). Il va de soi, que le produit de solubilité varie avec le pH. Nous aurons d'ailleurs l'occasion, au cours de ce travail, d'insister à nouveau sur l'importance de l'équilibre acide-base des humeurs, dans le processus de l'ossification.

Quant à savoir par quel mécanisme le phosphate tricalcique est fixé au niveau de la matrice préosseuse, on en est, là encore, réduit aux hypothèses. Pour les uns, les protéines, à la faveur de leurs ions COOH, se combineraient au calcium, et cette combinaison serait favorisée par l'ion phosphore. Cette théorie est, à l'heure actuelle, rejetée. Pour d'autres, Freudenberg et Giörgy (28), par exemple, la combinaison protéine-

calcium ne serait qu'un phénomène transitoire, et la calcification se ferait suivant le schéma :

- 1) Protéine du cartilage + $\text{Ca} \rightleftharpoons \text{Ca-protéine}$
- 2) $\text{Ca-protéine} + \text{phosphate} \rightleftharpoons \text{Ca-protéine-phosphate}$.
- 3) $\text{Ca-protéine-phosphate} \rightleftharpoons (\text{PO}_4)^3\text{Ca}^3 + \text{protéine}$.

impliquant ainsi en premier lieu une fixation du calcium sur la matière protéique avec formation d'un protéinate de calcium, puis une combinaison de ce calcium avec les phosphates et les carbonates de la lymphe interstitielle, qui libérerait ainsi les valences acides de la matière protéique prête à fixer à nouveau du calcium.

Enfin, une des dernières théories émises, celle de Benjamin (29-30), attribue le mécanisme de la calcification à une simple adsorption du complexe phosphore-calcium, sur les tissus en voie d'ossification.

L'organisation de l'os, dont nous venons de schématiser rapidement les différentes phases, a ceci de caractéristique que, pendant toute la durée de l'existence, mais surtout dans la première enfance, le squelette est soumis à des remaniements incessants ; la métaplasie osseuse est, en outre, essentiellement réversible : le tissu conjonctif s'ossifie facilement, mais, très facilement aussi, il revient à un état purement conjonctif.

D'autre part, les dépôts minéraux sont conditionnés par le support organique de l'os : l'osséine. Celle-ci fixe du calcium par combinaison, mais cette combinaison est fragile et instable, toujours prête à se rompre

en face des ions phosphates. L'osséine adsorbe, à la surface de ces micelles, des ions-calcium qui sont condensés sur sa surface, et cependant, actifs, prêts à la précipitation. Toute altération du support de l'osséine diminuera cette condensation et, par suite, ralentira ou arrêtera la calcification (Charlin (27)).

Le tissu osseux, en dépit du lien étroit qui unit le stroma protéique de l'os à sa partie minérale, possède donc une grande malléabilité ; voilà ce que l'étude de l'organisation du squelette permet de mettre en relief.

Cette malléabilité provient-elle uniquement du caractère réversible du mécanisme qui préside à sa formation ou, devons-nous envisager une participation active du squelette au métabolisme général ? C'est ce qu'il convient maintenant d'examiner.

III. — ROLE DES SELS DU SQUELETTE DANS LE METABOLISME

« Une chaîne liquide continue existe depuis le sérum
« jusqu'au tissu osseux, en passant par la lymphe
« interstitielle. Il en résulte une solidarité chimique
« entre ces trois tissus : le sang, la lymphe et l'os. »
(Charlin, 27).

En particulier, toute variation du produit de solubilité des ions du sérum est capable de se répercuter jusqu'aux tissus calcifiés et réciproquement.

On ne sait pas exactement quel est le processus qui règle la constance des ions PO_4^{4-} et Ca^{++} dans le sang. D'après Dhar (31), il se ferait grâce à l'équilibre suivant :



Cette hypothèse semble étayée par une série de recherches récentes.

En effet, si l'existence de $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}^3$ dans le sang sous une autre forme que la forme dialysable a été longuement controversée (Rona et Takahashi, Mayrs, Cushny, Grollmann, etc.), il y a un fait sur lequel l'accord est établi, c'est que, une partie du phosphore sanguin minéral peut devenir non dialysable. Grollman (32), Brüll (33-34), Scholtz (35), ont montré, à la suite de leurs expériences, tant *in vivo*, qu'*in vitro*, que l'augmentation des ions PO_4^{4-} ou Ca^{++} , dans le sang, par l'ingestion de phosphates ou de sels de calcium solubles, provoque la formation de phosphate tricalcique colloïdal, qui n'est pas filtrable au niveau du glomérule rénal. C'est donc grâce à ce complexe que s'établirait le « seuil » d'excrétion des phosphates au niveau des reins [Eicholtz et Stårning (36), Brüll (33)].

C'est ainsi que nous sommes amenés maintenant à considérer le sens de l'élimination urinaire du phosphore. C'est donc grâce à la propriété qu'a le rein d'excréter une urine plus acide que le sang, que se maintient l'équilibre acide-base des humeurs. Quel est donc le rôle joué par les phosphates dans ce mécanisme ?

Les humeurs possèdent une concentration en électro-

lytes des mieux ajustées. Au cours des circonstances diverses, les anions et les cations peuvent varier. Il est relativement facile à l'organisme de régulariser sa concentration en anions ; en effet, le métabolisme intermédiaire des hydrates de carbone, aboutit à la formation d'acides organiques, qui, en s'éliminant sous forme de sels alcalins, appauvrissent l'organisme en élément basique. Le maintien de la concentration en cations n'est fait que grâce au rôle du rein. Celui-ci pourvoit d'une façon constante à l'économie des bases de l'organisme, et, ceci :

Soit d'une façon directe, par formation d'ammoniaque et substitution de celle-ci aux bases alcalines pour éliminer les radicaux acides formés au cours de la dégradation des hydrates de carbone.

Soit, d'une façon indirecte, grâce à l'élimination de $\text{PO}^{4\equiv}$. En effet, tandis que les autres acides : HCl , SO^4H^2 , ne s'éliminent par les urines que sous forme de sels neutres, l'ion $\text{PO}^{4\equiv}$ peut s'éliminer sous forme de phosphate acide, ce qui économise autant de molécules de base ; c'est ce que, en particulier, les expériences de Brooke et Smith (37) ont dernièrement confirmé.

A la faveur de ces considérations, nous concevons qu'il y ait un lien très étroit entre les différents processus suivants : précipitation du phosphate tricalcique dans l'os — formation du phosphate tricalcique colloïdal — ionisation de $(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^2$ — élimination de P^2O^5 — maintien de l'équilibre acide-base, et que cette relation se manifeste tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre. Il est probable qu'à l'état normal, l'élimination des

phosphates réglant le pH des humeurs, se fait à la faveur des phosphates ingérés, mais que la quantité de phosphore alimentaire soit insuffisante ou qu'un trouble plus profond intervienne dans l'équilibre acide-base des humeurs, c'est aux phosphates osseux que l'organisme fera appel pour la régulation de cet équilibre.

Si cette intervention est de courte durée, les « réserves minérales » de l'os seront seules mises en jeu, mais à la longue, ces réserves étant épuisées, l'organisme mobilisera le phosphore du tissu osseux fondamental, en même temps que s'établiront des dystrophies osseuses.

Chez l'organisme jeune, les dépôts salins, au niveau du squelette, étant pratiquement inexistants, les lésions osseuses seront immédiates. C'est ainsi, par exemple, que chez de tous jeunes Rats, 24 heures de jeûne (donc d'acidose) font apparaître déjà des lésions rachitiques décelables radiographiquement.

Le rôle des phosphates, dans la régulation de l'équilibre acide-base de l'organisme, ne provient pas seulement de leur élimination sous une forme plus ou moins acide, par le rein, mais aussi de leur pouvoir tampon dans les diverses humeurs (sang, lymphe, etc.), pouvoir tampon qui est maximum au pH du sang (7,32), grâce à la valeur de la constante de dissociation des différentes fonctions acides de l'acide phosphorique. Il y aurait même un balancement entre le rôle tampon joué par les bicarbonates et celui joué par les phosphates. Les recherches de Duval et Portier (38), qui ont montré que chez les Invertébrés il existe un balancement entre

les bicarbonates et les phosphates dans le sang, et que, par conséquent, chez certains de ces animaux, les phosphates jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre acide-base, permettent d'admettre l'intervention de cet élément chez tous les animaux, surtout quand la réserve alcaline est basse. Mais, là-dessus, l'accord est loin d'être fait et de nouvelles recherches sont nécessaires.

Quoi qu'il en soit, le rôle actif du tissu osseux nous semble établi à l'heure actuelle et nous sommes loin de concevoir le squelette comme ayant un rôle passif, sinon inerte. Il n'est plus seulement la charpente de l'organisme car, s'il joue le rôle de réservoir minéral, il convient de lui attribuer, en plus de ce rôle essentiel, un rôle actif dans le métabolisme.

En définitive, l'un des caractères les plus typiques du tissu osseux est sa malléabilité, malléabilité provenant non seulement du mécanisme qui préside à sa formation, mais encore de la participation des sels minéraux du squelette au métabolisme général.

Si, par ailleurs, l'étude morphologique et physiologique de l'organisation de l'os fait ressortir le lien étroit qui unit le stroma protéique à la substance minérale, l'étude chimique de cette relation n'a, pour ainsi dire, jamais été envisagée. La composition chimique de l'os n'a en effet été considérée jusqu'ici que d'un point de vue purement statique. Elle nous a montré cependant que le principal constituant de la partie protéique de l'os est l'azote, alors que le phosphore est, sinon le principal constituant minéral, du moins l'un des plus importants d'entre eux. Elle

nous a permis, en outre, de saisir, sinon la nature du complexe phospho-calcaïque, du moins ses modifications. Celles-ci étant déterminées, comme nous l'avons vu, par le rôle actif joué par le phosphore du squelette dans le métabolisme général.

Aussi, avons-nous pensé qu'il serait possible, en dosant indirectement la matière organique, par sa teneur en azote, et le complexe minéral par sa teneur en phosphore, de saisir la relation existant entre ces deux constituants, par l'étude des variations du rapport P/N.

Nous avons ainsi établi, en quelque sorte, un indice d'ossification permettant de suivre l'évolution normale du squelette au cours de la vie des animaux, et ses modifications, à la suite des différentes carences (rachitisme, déséquilibre en sels, inanition protéique).

Nous avons complété l'étude de l'ossification proprement dite par celle de la teneur en phosphore des organismes, afin de déterminer, s'il existe, dans tous les cas, un parallélisme entre le phosphore du squelette et le phosphore total.

En sorte que le plan de nos recherches est le suivant :

I. L'étude du rapport P/N de l'os au cours de la vie d'animaux normaux, qui nous permettra sans doute de saisir les différentes étapes de l'ossification, et de montrer les différences essentielles qui existent entre le squelette d'un animal en croissance, et celui d'un animal adulte. Et, s'il y a vraiment des variations de la composition chimique des os en fonction de l'âge des animaux, quelle signification convient-il de leur donner?

II. Les différents régimes susceptibles de provoquer, soit des dystrophies osseuses, soit une simple déminéralisation, déterminent-ils une mobilisation du phosphore fondamental ou d'un phosphore de réserve ? Quelles seront les variations du P/N de l'os, à la suite de l'ingestion de régime déséquilibré en sels, et avitaminé, chez des animaux en croissance et adultes, et ses variations à la suite de l'ingestion de ces mêmes régimes complétés par de la vitamine D ?

Quelles sont les modifications de la composition chimique du squelette d'animaux nourris à un régime déséquilibré en azote ?

III. Le phosphore total suit-il des variations parallèles au P/N de l'os, tant à l'état normal, qu'au cours de différentes carences ? Etant donné le rôle joué par les phosphates dans la régulation de l'équilibre acide-base, ne pouvons-nous pas nous attendre à observer, dans certains cas, une participation particulière du phosphore des parties molles dans cette régulation ?

Recherches Personnelles

Première Partie

Etude des différents processus
de l'ossification chez l'animal normal,
au moyen des variations
du rapport Phosphore/Azote (P/N)
de l'os.

Dans cette première partie, nous nous sommes particulièrement occupés de l'organisation du squelette au cours de la croissance des animaux et de sa composition à l'état adulte. En établissant le rapport Phosphore/Azote de l'os, nous avons pensé obtenir certains renseignements sur les différentes étapes du développement des os et pouvoir ainsi expliquer l'observation faite par les physiologistes et les histologistes, de la plus ou moins grande sensibilité des animaux en croissance aux différents déséquilibres alimentaires.

Les variations de ce rapport ne nous permettront-elles pas de mettre en évidence les différences essentielles qui existent entre le squelette d'un sujet en croissance et celui d'un sujet adulte, et d'aborder le problème des réserves minérales qui, à l'heure actuelle, n'est pas encore sorti du domaine des hypothèses ?

Les résultats expérimentaux réunis dans cette première partie apportent, croyons-nous, une contribution utile à la solution de ces différents problèmes.

Etude de l'azote, du phosphore et du rapport P/N de l'os chez le Rat normal,

L'étude du squelette a été effectuée sur des os de Rats, animaux assez petits, se multipliant facilement, ce qui nous a permis de nous trouver en présence d'un plus grand nombre de données expérimentales.

A quelques exceptions près, tous les animaux ont été choisis dans un élevage placé sous notre surveillance. Recevant une nourriture variée : blé, légumes verts, pain, lait, levure de bière, et soumis à des mesures de propreté élémentaires, mais nécessaires, nous avons acquis ainsi la certitude de n'opérer que sur des animaux absolument sains et d'une vitalité homogène. Nos résultats, tant dans la suite des recherches sur les Rats normaux, que dans celle sur les Rats soumis à divers régimes, sont donc rigoureusement comparables.

Comme dans nos expériences, nous aurons à faire intervenir, tantôt le poids, tantôt l'âge, dans l'étude des variations de la composition du squelette, et plus particulièrement du rapport phosphore/azote, nous avons cru nécessaire, bien que ces données soient établies depuis longtemps, d'étudier la courbe du poids des animaux en fonction de leur âge. Nous la comparons (fig. I) avec les courbes établies par King et Ferry (tirées du *Traité de physiologie normale et pathologique* de Roger et Binet, 39).

RESULTATS EXPERIMENTAUX

I. — COURBE DE POIDS ET CROISSANCE DES ANIMAUX.

Le poids maximum de nos animaux, mâles et femelles, est légèrement inférieur à celui des animaux étudiés par King et Ferry. De plus, nous avons noté un point d'inflexion dans la courbe de poids aux environs du troisième mois ; il y a pendant quelques jours (cinq à six environ) un arrêt dans l'augmentation du poids, puis la courbe reprend normalement, mais à une intensité moindre. Dès maintenant, nous croyons devoir attirer l'attention sur ce fait que nous verrons s'affirmer et s'amplifier au cours de nos expériences. Il montre que la période de croissance intense (pendant laquelle l'animal passe de 5 grammes — poids de la naissance — à 110 grammes) et l'état adulte, sont séparés par un état

intermédiaire que nous appellerons désormais, avec Mouriquand, stade préadulte ⁽¹⁾.

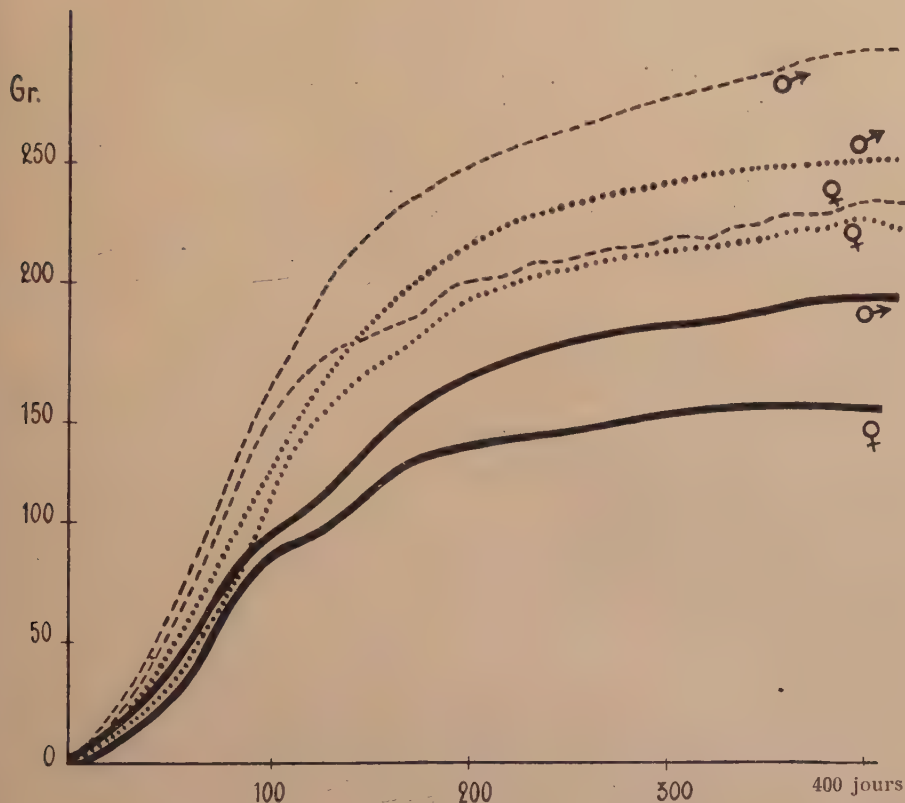


FIG. I. — *Croissance du Rat blanc.*

----- Courbes établies par King.
..... Courbes établies par Ferry.
———— Courbes personnelles.

(¹) La distinction de ce stade préadulte est indiquée, non seulement à partir des courbes de poids, mais de bien d'autres phénomènes. C'est ainsi que dans cette période, l'animal, bien qu'étant encore en croissance, est beaucoup moins sensible à diverses carences (guérison spontanée du rachitisme).

La courbe se stabilise entre le cinquième et le sixième mois. La durée moyenne de vie active chez un Rat est d'environ un an. Au bout de ce temps, les animaux prennent l'aspect sénile caractéristique, leurs poils jaunissent et tombent, ils deviennent stériles, puis ils meurent plus ou moins rapidement.

Il est, d'autre part, utile de noter que, jusqu'à trois mois environ, l'ascension de la courbe se fait à la même accélération, que l'on considère des animaux mâles ou femelles.

II. — EXAMEN CHIMIQUE DES OS ⁽¹⁾.

Pour l'étude de l'ossification chez l'animal normal en croissance, nous avons opéré sur différents animaux depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte. Nos recherches ont exclusivement porté sur les tibias et les fémurs, principaux représentants, à notre avis, des os longs des animaux. Leur prélèvement peut se faire d'une façon correcte, ces os étant assez facilement débarrassés des lambeaux de muscles ou de tendons. Cependant, quelques difficultés ont apparue pour les prélèvements des os de Rats nouveau-nés, étant données leur petitesse et leur fragilité ; aussi avons-nous, dans ce cas, réuni les tibias d'une part, les fémurs d'autre part, de toute une portée. Pour les mêmes raisons, pour les Rats pesant de 10 à 20 gr., nous avons réuni les deux fémurs et les deux tibias. Cette technique nous a permis de

⁽¹⁾ Nous avons publié, en collaboration avec A. Roche, un certain nombre des résultats réunis dans ce chapitre (40).

diminuer l'erreur due à la pesée et au prélèvement, et, en outre, de nous trouver en présence de quantités d'azote et surtout de phosphore qui ne sortaient pas des limites des méthodes de dosage utilisées pour les os de Rats préadultes ou adultes.

Sur les os soigneusement dépouillés, nous nous sommes livrés aux manipulations suivantes :

1° Pesée de l'os frais.

2° Poids sec de l'os.

3° Minéralisation.

4° Dosage du Phosphore et de l'Azote.

Les os ont été placés dans des pèse-filtres propres et secs, et pesés immédiatement. Portés à l'étuve à 100-105° pendant 5 ou 6 jours, ils n'en étaient retirés que lorsque deux pesées successives faites à 24 heures d'intervalle en accusaient le même poids.

Les os secs ont été minéralisés dans un ballon de Kjeldhal à l'aide de 2 à 3 cc, d'acide sulfurique concentré et pur, en présence de sulfate de cuivre et de sulfate de potasse employés comme catalyseurs. Dans le résultat de la minéralisation dilué à un volume connu, nous avons dosé sur une partie aliquote l'azote par la méthode de Kjeldahl, et le phosphore par la méthode de Neumann ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Ces méthodes de dosage étant classiques, nous n'avons pas jugé utile de les rapporter en détail ici.

TABLEAU I
Poids frais des os de Rats normaux.

Rats N°	Poids des Rats (gr.)	Poids frais des fémurs (gr.)		Poids frais des tibias (gr.)	
		FD*	FG*	TD*	TG*
69 N	»	0,103		0,058	
68 N	»	0,074		0,046	
66 N	11,3	0,132		0,110	
64 N	12,6	0,140		0,137	
67 N	14,1	0,157		0,114	
73 N	21	0,226		0,169	
70 N	23	0,216		0,187	
72 N	31	0,246		0,251	
71 N	35	0,149	0,139	0,126	»
75 N	44	0,200	0,201	0,170	0,182
74 N	51	0,222	0,217	0,161	0,186
52 N	52	0,195	0,202	0,159	0,160
53 N	62	0,232	0,243	0,159	0,172
54 N	72	0,242	0,271	0,186	0,184
55 N	82	0,265	0,303	0,209	0,190
48 N	90	0,330	0,321	0,238	0,238
50 N	95	0,301	0,309	0,232	0,235
44 N	102	0,361	0,346	0,268	0,271
49 N	102	0,362	0,356	0,273	0,292
36 N	106	0,432	0,388	0,257	0,272
45 N	109	0,377	0,425	0,273	0,330
35 N	112	0,345	0,337	0,276	0,263
61 N	146	0,500	0,486	0,379	0,352
51 N	135	0,458	0,421	0,305	0,305
22 N	143	0,468	0,484	0,370	0,355
60 N	152	0,547	0,532	0,401	0,418
57 N	172	0,721	0,659	0,441	0,433
65 N	208	0,673	0,674	0,469	0,492
9 N	222	0,554	0,540	0,394	1,390

(*) Dans la suite des tableaux, FD indique le fémur droit, FG le fémur gauche, TD le tibia droit, TG le tibia gauche.

TABLEAU II

Poids sec des os de Rats normaux.

Rats N°	Poids sec (gr.)		Poids sec (gr.)	
	FD	FG	TD	TG
69 N		0,017		0,009
68 N		0,019		0,013
66 N		0,039		0,136
64 N		0,037		0,049
67 N		0,045		0,039
73 N		0,071		0,064
70 N		0,059		0,067
72 N		0,086		0,110
71 N	0,044	0,042	0,047	»
75 N	0,062	0,065	0,059	0,066
74 N	0,072	0,076	0,065	0,071
52 N	0,091	0,083	0,079	0,077
53 N	0,098	0,093	0,073	0,079
54 N	0,108	0,109	0,090	0,090
55 N	0,169	0,114	0,098	0,086
48 N	0,148	0,161	0,146	0,134
50 N	0,169	0,146	0,135	0,134
44 N	0,167	0,167	0,143	0,142
49 N	0,190	0,167	0,152	0,157
46 N	0,165	0,179	0,129	0,141
45 N	0,154	0,177	0,138	0,159
35 N	0,285	0,158	0,139	0,135
61 N	0,249	0,272	0,220	0,212
51 N	0,249	0,232	0,186	0,187
22 N	0,286	0,286	0,235	0,230
60 N	0,325	0,320	0,275	0,266
57 N	0,499	0,394	0,306	0,291
65 N	0,412	0,408	0,307	0,312
9 N	0,332	0,328	0,252	0,240

TABLEAU III

Teneur en eau des os des Rats normaux.

Rats N°	Eau p. cent des fémurs		Eau p. cent des tibias	
	FD	FG	TD	TG
68 N		74		72
69 N		84		84
66 N		67		69
64 N		73		64
67 N		70		65
73 N		70		62
70 N		70		64
72 N		70		70
71 N	70	70	62	»
75 N	69	67	65	63
74 N	67	69	60	60
52 N	59	60	51	50
53 N	60	61	54	54
54 N	59	59	51	51
55 N	60	62	52	51
48 N	49	49	39	43
50 N	50	52	42	42
44 N	53	52	47	47
49 N	52	53	44	46
36 N	54	54	50	48
45 N	56	58	49	51
35 N	55	53	49	50
61 N	43	44	42	40
51 N	45	45	39	39
22 N	39	40	35	35
60 N	40	40	30	36
57 N	31	40	30	33
65 N	39	39	34	38
9 N	39	40	36	34

TABLEAU IV

Azote total des os de Rats normaux.

Rats N°	Azote des fémurs (mgr.)		Azote des tibias (mgr.)	
	FD	FG	TD	TG
69 N		1,84		0,94
68 N		0,97		0,94
66 N		3,25		2,87
64 N		3,79		3,48
67 N		4,03		3,25
73 N		5,50		4,39
70 N		»		5,87
72 N		6,58		6,91
71 N	3,69	3,17	3,17	»
75 N	5,60	5,28	4,65	5,08
74 N	5,85	4,97	4,62	4,52
52 N	5,88	5,74	4,30	4,30
53 N	»	7,08	7,00	7,10
54 N	5,64	8,48	4,50	5,14
55 N	8,26	»	6,56	5,84
48 N	11,16	10,74	8,26	8,14
50 N	10,42	10,04	7,88	7,52
44 N	12,26	11,64	8,92	9,80
49 N	11,96	11,78	10,00	9,84
36 N	13,66	12,60	9,20	9,46
45 N	13,26	14,22	9,98	10,90
35 N	11,56	11,76	9,76	9,20
61 N	16,94	14,94	12,10	10,70
51 N	14,52	13,26	10,06	9,82
22 N	15,42	15,02	12,08	11,22
60 N	16,60	16,72	12,20	12,20
57 N	18,60	19,54	12,96	13,44
65 N	19,96	20,00	12,90	15,50
9 N	17,40	16,64	12,28	12,04

TABLEAU V

*Teneur en Azote des os de Rats normaux
rapportée au poids frais.*

Rats N°	Azote en % du poids frais		Azote en % du poids frais	
	FD	FG	TD	TG
69 N		1,78		1,62
68 N		1,31		2,04
66 N		2,66		2,51
64 N		2,70		2,62
67 N		2,50		2,85
73 N		2,47		2,59
70 N		»		3,13
72 N		2,67		2,75
71 N	2,46	2,26	2,51	»
75 N	2,80	2,62	2,73	2,78
74 N	2,63	2,28	2,87	2,42
52 N	3,00	2,84	2,70	2,68
53 N	»	2,91	3,29	4,12
54 N	2,32	3,13	2,42	2,79
55 N	3,12	»	3,14	2,10
48 N	3,38	3,34	3,46	3,42
50 N	3,46	3,24	3,39	3,20
44 N	3,39	3,36	3,29	3,61
49 N	3,30	3,30	»	3,38
36 N	3,16	3,24	3,57	3,48
45 N	3,51	3,34	3,64	3,30
35 N	3,35	3,40	3,53	3,43
61 N	3,38	3,07	3,19	3,04
51 N	3,17	3,14	3,28	3,22
22 N	3,29	3,10	3,26	3,16
60 N	3,03	2,95	3,04	3,14
57 N	2,57	2,96	2,93	2,87
65 N	2,09	2,90	2,80	3,10
9 N	3,16	3,26	3,11	3,29

TABLEAU VI

*Teneur en Azote des os de Rats normaux
rapportée au poids sec.*

Rats N°	Azote en % du poids sec		Azote en % du poids sec	
	FD	FG	TD	TG
69 N		10,82		10,44
68 N		5,10		7,23
66 N		8,34		7,97
64 N		10,25		7,11
67 N		8,95		8,33
73 N		7,74		6,85
70 N		»		8,76
72 N		7,65		6,28
71 N	8,38	7,54	6,76	»
75 N	9,12	8,12	8,42	7,69
74 N	8,12	6,53	7,18	6,36
52 N	7,64	6,93	5,44	»
53 N	»	7,61	9,58	9,98
54 N	5,66	7,78	5,00	5,71
55 N	7,46	»	6,68	6,78
48 N	6,60	6,66	5,65	6,07
50 N	7,04	6,87	5,92	5,61
44 N	7,24	6,96	6,23	6,90
49 N	7,16	7,05	6,58	6,26
36 N	7,19	7,05	7,13	6,71
45 N	8,03	8,05	7,21	6,85
35 N	7,50	7,44	7,00	6,91
61 N	5,94	5,49	5,50	5,04
51 N	5,83	5,71	5,40	5,24
22 N	5,39	5,25	5,14	4,88
60 N	5,12	4,91	4,43	4,50
57 N	3,89	4,96	4,23	4,28
65 N	4,60	4,80	4,20	4,90
9 N	5,24	5,07	4,86	5,07

TABLEAU VII
Phosphore total des os de Rats normaux.

Rats N°	Phosphore des fémurs (mgr.)		Phosphore des tibias (mgr.)	
	FD	FG	TD	TG
69 N	1,38		0,77	
68 N	0,92		0,82	
66 N	2,55		2,61	
64 N	2,62		3,20	
67 N	3,27		2,72	
73 N	3,78		3,70	
70 N	»		3,85	
72 N	3,87		5,65	
71 N	3,37	3,02	3,30	»
75 N	5,55	5,60	5,00	5,50
74 N	5,17	5,50	5,85	4,85
52 N	6,50	6,77	6,00	6,00
53 N	7,47	7,66	8,34	7,10
54 N	8,20	8,48	6,85	7,50
55 N	10,67	12,18	9,50	8,50
48 N	16,47	16,00	13,40	13,68
50 N	14,09	13,95	12,85	12,72
44 N	13,85	13,40	12,58	12,72
49 N	15,32	15,75	15,08	13,95
36 N	15,08	14,77	12,31	12,50
45 N	13,94	14,22	12,17	12,80
35 N	13,54	13,40	13,13	12,99
61 N	29,20	28,70	26,10	25,00
51 N	28,18	26,12	21,21	21,06
22 N	32,50	30,50	25,30	24,48
60 N	39,80	37,80	34,60	31,70
57 N	43,75	44,00	36,25	33,75
65 N	49,20	49,40	37,30	38,40
9 N	36,40	38,20	28,00	28,40

TABLEAU VIII

*Teneur en Phosphore des os de Rats normaux
rapportée au poids frais.*

Rats N°	Phosphore en % du poids frais		Phosphore en % du poids frais	
	FD	FG	TD	TG
69 N		1,34		1,32
68 N		1,22		1,78
66 N		2,08		2,37
64 N		1,87		2,33
67 N		2,08		2,37
73 N		1,66		2,19
70 N		»		2,05
72 N		1,57		2,05
71 N	2,26	2,17	2,61	»
75 N	2,77	2,78	2,93	3,02
74 N	2,32	2,53	3,63	2,60
52 N	3,33	3,35	3,77	3,75
53 N	3,21	3,15	5,20	4,10
54 N	3,39	3,13	3,67	4,10
55 N	4,02	»	4,59	4,47
48 N	4,83	4,98	5,63	5,74
50 N	4,68	4,51	5,54	5,41
44 N	3,83	3,86	4,69	4,64
49 N	3,34	4,30	»	4,77
36 N	3,50	3,80	4,78	4,65
45 N	3,69	3,34	4,46	3,88
35 N	3,92	3,97	4,39	4,84
61 N	5,84	5,90	4,88	7,10
51 N	6,13	6,20	6,93	6,90
22 N	6,97	6,30	6,84	6,89
60 N	7,20	7,10	8,62	7,58
57 N	6,06	6,67	8,22	7,78
65 N	7,31	7,32	7,95	7,80
9 N	6,57	7,07	7,08	8,47

TABLEAU IX

*Teneur en Phosphore des os de Rats normaux
rapportée au poids sec.*

Rats N°	Phosphore en % du poids sec		Phosphore en % du poids sec	
	FD	FG	TD	TG
69 N		8,17		8,62
68 N		4,90		5,30
66 N		6,33		7,25
64 N		7,05		6,12
67 N		7,26		6,97
73 N		5,32		5,78
70 N		»		5,74
72 N		4,50		5,13
71 N	7,65	7,19	7,12	»
75 N	8,95	8,61	8,47	8,35
74 N	7,18	7,25	9,00	6,83
52 N	8,44	8,15	7,60	7,78
53 N	8,19	8,23	9,70	8,98
54 N	8,38	7,78	7,60	8,33
55 N	9,89	9,89	9,70	9,88
48 N	9,75	9,94	9,24	10,51
50 N	9,53	9,55	9,66	9,49
44 N	8,20	8,02	8,80	8,96
49 N	9,42	9,11	9,06	9,06
36 N	8,46	8,25	9,55	8,86
45 N	8,45	8,03	8,82	8,04
35 N	8,79	8,48	9,44	9,76
61 N	10,24	10,55	11,86	11,84
51 N	11,31	11,26	11,40	11,27
22 N	11,39	10,70	10,76	10,64
60 N	12,21	11,81	12,84	11,91
57 N	8,76	11,16	12,58	11,59
65 N	11,94	12,10	12,11	12,30
9 N	10,96	11,64	11,11	11,79

TABLEAU X

Variation du rapport P/N des os de Rats normaux.

Rats N°	P/N des fémurs		P/N des tibias	
	FD	FG	TD	TG
69 N		0,79		0,81
68 N		0,94		0,87
66 N		0,80		0,98
64 N		0,96		0,91
67 N		0,81		0,83
73 N		0,69		0,84
70 N		»		0,66
72 N		0,60		0,81
71 N	0,91	0,95	0,85	»
75 N	1,05	1,10	1,09	1,05
74 N	0,88	1,10	1,26	1,09
52 N	1,11	1,17	1,39	1,39
53 N	1,17	1,08	1,20	1,47
54 N	1,45	1,05	1,52	1,46
55 N	1,29	»	1,44	1,43
48 N	1,47	1,49	1,63	1,73
50 N	1,35	1,38	1,61	1,65
44 N	1,13	1,15	1,41	1,28
49 N	1,31	1,29	1,37	1,44
36 N	1,17	1,17	1,33	1,31
45 N	1,05	1,01	1,13	1,16
35 N	1,17	1,13	1,34	1,41
61 N	1,79	1,96	2,10	2,14
51 N	1,93	1,97	2,11	2,14
22 N	2,11	2,03	2,08	2,17
60 N	2,39	2,40	2,83	2,40
57 N	2,34	2,25	2,79	2,71
65 N	2,46	2,47	2,88	2,47
9 N	2,16	2,17	2,28	2,35

Nos différentes données chimiques portent donc sur le poids des os, leur teneur en eau, en azote et en phosphore, leur rapport P/N.

1°) *Variations du poids des os.*

Les poids des fémurs et des tibias sont réunis dans les tableaux I et II. Ils présentent chez un même animal des écarts atteignant de 1 à 50 mgr. pour les fémurs, de 1 à 25 mgr. pour les tibias, et qui ne sont pas systématiques.

Nous avons établi le poids sec des os, non seulement en vue de connaître leur teneur en eau, mais aussi afin de posséder une donnée d'une constance plus rigoureuse. En effet, quelle que soit la rapidité avec laquelle les prélèvements ont été effectués et quels que soient les soins que l'on y apporte, il y a un minimum d'erreurs que l'on ne peut éviter, erreurs dues à l'évaporation ou aux lambeaux de muscles qui restent accrochés à l'os. En ramenant les teneurs en phosphore et en azote au poids sec, au lieu de les ramener au poids frais, on diminue considérablement ces deux causes d'erreurs.

2°) *Variations de la teneur en eau.*

Les différentes valeurs relatives à cet élément sont réunies dans le tableau III.

D'une façon générale, la teneur en eau des fémurs est supérieure à celle des tibias. Ceci nous paraît normal, si l'on considère que l'eau provient surtout de la moëlle osseuse, et que le taux de cette substance est plus élevé dans les fémurs que dans les tibias. La teneur en eau

en fonction du poids de l'os diminue régulièrement de 84 à 40 % pour les fémurs, de 84 à 32 % pour les tibias. On considérera la rapidité avec laquelle s'abaisse le taux de l'eau dans les premières heures qui suivent la naissance ; sur la portée 69 N, les prélèvements ont été effectués au moment même de la naissance ; le taux de l'eau est de 84 %, très voisin de celui du fœtus entier qui ne figure pas dans ce travail et qui atteint 90 %. La portée 68 N avait une quinzaine d'heures d'existence quand ces prélèvements ont été effectués ; le taux de l'eau est de 74 %. Il décroît ensuite régulièrement jusqu'à l'âge adulte, moment auquel il se stabilise.

3°) *Variations de la teneur en azote.*

Cette nouvelle série de données portant sur la teneur en azote sont réunies dans les tableaux IV, V et VI.

Nous ferons, ici, la même remarque qui a été déjà faite pour l'eau, à savoir : la teneur totale en azote, comme la teneur en eau, étant déterminée par la matière organique (osséine et moëlle), cette valeur sera plus élevée dans les fémurs que dans les tibias. En effet, la quantité d'azote est de 2 à 20 mgr. pour les fémurs, tandis qu'elle est de 1 à 13 mgr. pour les tibias.

Les valeurs d'azote rapportées au poids frais des os (réunies dans le tableau V) varient de 1,70 % (pour les tibias) à la naissance, croissent régulièrement et atteignent 3,4 % chez les animaux qui pèsent de 110 à 120 grammes, et dont la croissance est pratiquement terminée. Chez les animaux adultes ou très vieux, ce taux se stabilise, après avoir légèrement diminué

puisqu'il n'atteint plus que la valeur moyenne de 2,9-3 % quand on rapporte le taux de l'azote au poids de l'os

Ces différentes variations sont plus systématiques quand on rapporte le taux d'azote au poids de l'os sec (tableau VI). Elles nous ont permis de tracer la courbe de la figure II.

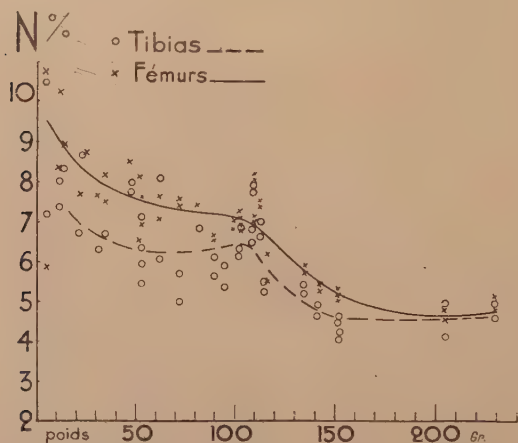


FIG. II. — Variations de la teneur en azote (N) de l'os sec en fonction du poids des animaux.

On observe depuis la naissance jusqu'à l'âge pré-adulte une diminution faible, mais régulière, du taux de l'azote qui passe de 8 % en moyenne à 7 %. A partir de ce moment, la diminution est beaucoup plus rapide et le taux d'azote se stabilise aux environs de 4 %, quand l'animal est adulte.

4°) *Variations de la teneur en phosphore.*

L'examen du tableau VII montre que les différents os ont une teneur en phosphore totale qui croît de 2,5 mgr. à 40 mgr. pour les fémurs, de 2,5 mgr. à 35 mgr. pour les tibias. Le taux de cet élément rapporté au poids

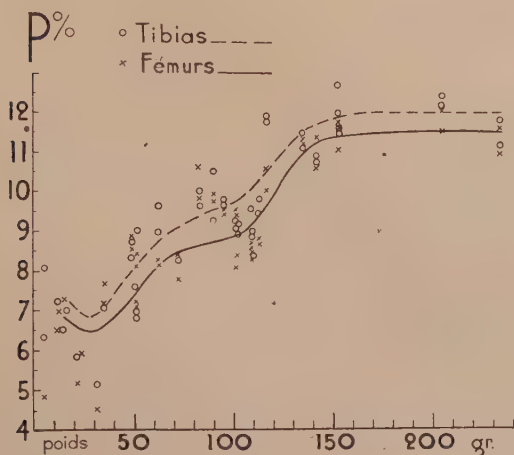


FIG. III. — *Variations de la teneur en phosphore (P) de l'os sec en fonction du poids de l'animal.*

frais de l'os passe de 1,3 % à 3,4 % depuis la naissance jusqu'au stade préadulte ; il augmente ensuite rapidement et se stabilise chez l'animal adulte autour de 7-8 %.

A l'inverse de ce qui a lieu pour l'azote, le taux de phosphore est plus élevé dans les tibias que dans les fémurs.

L'ensemble de ces différentes variations est beaucoup plus marqué, quand on étudie le taux du phosphore par rapport au poids sec des os. Nous avons réuni ces données dans le tableau VIII. Elles nous ont permis de construire la courbe de la fig. III.

Nous constatons que le taux en phosphore de l'os, qui atteint 6 % en moyenne chez le jeune Rat, diminue au cours des premières semaines qui suivent la naissance, et, après un minimum de 4-5 % chez les animaux pesant de 25 à 30 grammes, augmente lentement et atteint 8 à 9 % ; ce taux se maintient chez les animaux préadultes. Il augmente ensuite rapidement chez les animaux adultes pour lesquels on observe des valeurs de 11 à 12 %.

5°) *Variations du rapport P/N.*

Les variations de ce rapport sont représentées sur les courbes de la fig. IV et réunies dans le tableau IX.

On constate qu'elles sont parallèles à celles du phosphore. Le P/N qui a une valeur de 0,8 à la naissance, subit un minimum chez les animaux pesant de 25 à 30 grammes, croît lentement, pour atteindre les valeurs voisines de 1,2, chez les animaux dont le poids atteint de 80 à 100 grammes. Nous notons également un point d'inflexion chez les animaux préadultes (1,1). A partir de ce moment, il croît rapidement pour se stabiliser chez les animaux adultes autour de 2,6.

En outre, les tibias ayant une teneur en phosphore supérieure à celle des fémurs et inversement une teneur

en azote moindre, les variations du rapport P/N s'établissent en sens inverse ; il en découle une valeur nettement différente, suivant que l'on considère l'un ou

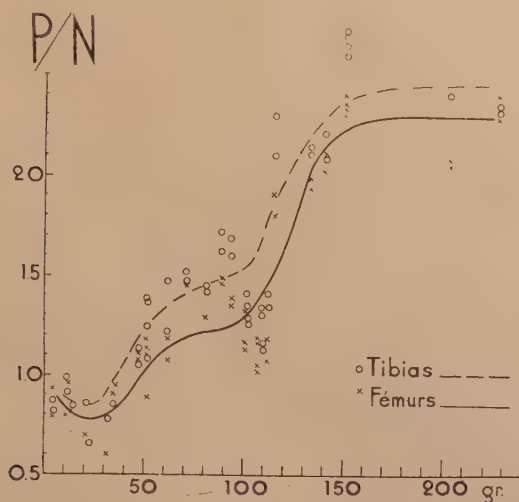


FIG. IV. — Variations du rapport phosphore/azote (P/N) de l'os, en fonction du poids des animaux.

l'autre de ces os — le tibia présentant dans tous les cas, et presque d'une façon systématique, une valeur supérieure à celle du fémur.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

L'étude des variations de la composition du squelette au cours de la vie des animaux nous permet de déduire les faits suivants. L'évolution du squelette paraît se faire en trois temps :

Dans un premier temps, correspondant aux 3 ou 4 premières semaines qui suivent la naissance de l'animal, l'os croît, en développant la matrice protéique sur laquelle les dépôts de phosphates de calcium se forment avec une intensité beaucoup moindre que dans la période ultérieure. N'est-ce pas là l'expression de faits d'ordre morphologique et histologique que l'on observe pendant la croissance du squelette ? D'après Policard (23), l'ossification membraneuse qui, seule, chez le fœtus, détermine la formation du squelette, est remplacée, pendant les derniers mois de la vie intra-utérine et surtout après la naissance, par l'ossification enchondrale qui « fixe la croissance » et par l'ossification haversienne, qui consolident le squelette. N'y a-t-il pas une relation entre la diminution du P/N, son minimum, et le remaniement osseux caractéristique du développement du squelette à cette époque de la vie de l'animal ?

En effet, dans les deux phases successives qui s'opèrent dans l'ossification enchondrale et haversienne et qui impliquent la destruction d'un modèle préexistant de cartilage ou d'os rudimentaire, puis l'édification d'os nouveau, le phénomène d'ostéolyse peut s'effectuer à une intensité plus grande que le phénomène d'ostéogénèse.

S'il y a vraiment une relation entre ces phénomènes et les valeurs relatives du rapport P/N de l'os, on peut admettre que les remaniements osseux se font encore de façon intense chez les animaux pesant de 30 à 45 grammes, puisque le P/N, après le minimum observé chez les Rats pesant de 25 à 30 grammes, bien que subissant une augmentation régulière, reste encore très faible. C'est précisément pendant cette période que les jeunes ani-

maux sont susceptibles de contracter du rachitisme par avitaminose D.

De même, en clinique, c'est au cours de la première enfance, ainsi que nous le fait remarquer Policard, que les maladies du squelette offrent un « caractère spécial ».

Dans la deuxième période, l'animal pesant 100-110 grammes, son squelette a atteint sa taille définitive. L'ossification enchondrale joue encore et le squelette continue à se consolider par le processus de l'ossification haversienne, mais ces deux processus se font d'une façon ralentie, ce qui correspondrait à l'augmentation assez lente du rapport P/N, les dépôts minéraux se faisant alors parallèlement à l'accroissement de la matière organique.

Le point d'inflexion que l'on observe pour les animaux préadultes correspond fort probablement à une accélération des processus d'édification du squelette (ossification enchondrale) par rapport à ceux de sa consolidation (ossification haversienne).

Ceci explique le fait que, chez les animaux de 50 à 110 grammes, les lésions rachitiques ne prennent plus naissance, et les animaux carencés antérieurement, guérissent spontanément. Cependant, s'ils ne sont plus aptes à faire du rachitisme, leur squelette n'étant pas encore consolidé, ils peuvent encore présenter des lésions pseudo-rachitiques lorsqu'ils sont soumis à un régime déséquilibré en phosphore et en calcium (régime 85 de Pappenheimer) et carencé en vitamine D.

Enfin, dans le troisième temps de l'ossification, toute croissance étant terminée, seuls les dépôts minéraux

continuent à s'organiser ; le squelette s'enrichit en sels, tandis que le développement de sa partie protéique est fortement ralenti ou arrêté. Au delà de 150 grammes, le squelette est définitivement constitué et ne subit plus de modification, même chez des animaux très âgés. En effet, parmi nos animaux adultes, les Rats 59 et 60 N sont deux femelles stériles par vieillesse. Nous n'avons observé aucune modification notable du rapport P/N en fonction de leur âge.

L'augmentation rapide du rapport P/N chez l'animal passant du stade préadulte au stade adulte, et sa stabilisation à ce moment-là, tendent à montrer que, dès que l'os a atteint sa taille maximum, les dépôts se forment et ceux-ci paraissent alors *indépendants de la matrice protéique de l'os*.

Au stade adulte, les troubles de l'ossification ne peuvent être provoqués qu'avec un régime fortement déséquilibré en sels (régime 85 de Pappenheimer, additionné de strontium, calcium ou magnésium). C'est parce que ces dépôts minéraux existent au niveau du squelette, que chez l'adulte les dystrophies osseuses ne s'installent qu'après 8 à 10 jours de régime, tandis qu'elles apparaissent dès les premiers jours chez les animaux jeunes.

En définitive, la constitution du squelette chez le Rat, et probablement chez les Vertébrés supérieurs se ferait suivant deux processus :

Il y aurait d'abord ossification proprement dite, qui durerait chez le Rat, depuis sa naissance jusqu'au moment où il atteint le poids de 100 grammes environ. C'est au cours de cette période que se formerait, sui-

vant l'expression de Van Slyke et Peters (41), le « tissu osseux fondamental ».

Puis, à partir du stade préadulte et jusqu'au stade adulte, il y aurait formation de dépôts salins mobilisables, pouvant jouer le rôle de réserves que l'organisme utiliserait dans les cas de besoins : régulation de l'équilibre acide-base des humeurs, « mutations calciques » par exemple.

A l'appui de cette conception, nous rapportons ici les récents travaux de J. Roche et A. Leandry (42), sur la phosphatase osseuse.

On sait, en effet, depuis les travaux de Robison (13) et de ses élèves, le rôle joué par la phosphatase dans les processus de l'ossification ; leurs expériences, *in vitro*, ont montré que l'activité et la quantité de cet enzyme, au niveau des tissus destinés à s'ossifier, étaient fonction de la croissance de ces tissus. J. Roche et Leandry ont dosé la teneur de cet enzyme dans toutes les parties de l'os (diaphyses et   piphyes) chez les animaux en croissance, et ont étudié les variations de ce taux, par rapport à l'azote des os, au cours de la vie des animaux. Leurs résultats se résument ainsi :

Dans la période initiale du développement, la teneur en phosphatase des différentes parties de l'os augmente notablement. Elle décroît ensuite régulièrement, jusqu'à ce que les Rats atteignent le poids de 80 grammes environ. Elle se maintient à un taux constant par rapport à la teneur en protéine de l'os, pendant toute la période où l'animal est adulte. La phosphatase paraît intervenir surtout au cours de la première période du développement de l'os, pour constituer ce que nous avons appelé

le « tissu osseux fondamental ». Ce stade terminé, le dépôt des sels doit alors se faire, partiellement tout au moins, au moyen d'un autre mécanisme qu'il conviendra de préciser dans de nouvelles recherches.

C'est en vue de modifier tantôt ce tissu osseux fondamental, tantôt les réserves minérales, que nous avons soumis des Rats en croissance ou adultes, à différentes carences ; l'étude de ces variations fera l'objet de la deuxième partie de ce travail.

Deuxième Partie

Etude des troubles de l'ossification
chez le Rat carencé,
au moyen des variations
du rapport Phosphore/Azote (P/N)
de l'os.

Nous avons vu, au cours de notre introduction, qu'un des arguments en faveur du caractère labile des constituants minéraux de l'os, étaient les modifications de la composition chimique du tissu osseux, observées :

d'une part, avec l'âge des animaux,
d'autre part, avec la ration.

L'étude du phosphore, de l'azote et du rapport P/N de l'os nous a permis, au cours de la première partie de ce travail, de suivre parallèlement l'organisation du tissu osseux et des dépôts salins qui s'y forment et d'expliquer les modifications de la composition chimique de l'os, au cours des différentes époques de la vie des animaux, par l'évolution même du squelette. Celui-ci s'organiserait en trois étapes correspondant respectivement à la croissance proprement dite, à l'état pré-adulte, et à l'état adulte de l'animal. Le tissu osseux fondamental s'organisant au cours des deux premières étapes, tandis que dans la dernière se constituent les « réserves minérales ».

Dans cette seconde partie, nous nous sommes proposé d'étudier les variations de la composition chimique de l'os chez les animaux soumis à des régimes différents et

susceptibles de provoquer des modifications, soit du tissu osseux fondamental, soit des réserves.

C'est ainsi que nous trouverons exposées dans ces différents chapitres, à la suite de généralités sur les dystrophies osseuses et la déminéralisation de l'organisme, les résultats d'expériences ayant porté :

1° Sur des animaux soumis à un régime rachitigène et avitaminé (cette étude ayant été poursuivie, d'une part chez les Rats en croissance, d'autre part chez les Rats préadultes et adultes).

2° Sur des animaux jeunes et adultes, soumis à un régime rachitigène, mais recevant de la vitamine D, dont on connaît le rôle dans la calcification.

3° Sur des animaux soumis à un régime sans azote (inanition protéique) susceptible non seulement de provoquer des troubles de la matrice de l'os, par désintégration de la partie protéique, mais surtout, de provoquer une déminéralisation, à la suite d'un état d'acidose consécutif au jeûne protéique.

4° Sur un animal ayant reçu un régime, privé à la fois d'azote et de phosphore.

I. Généralités sur la déminéralisation et les dystrophies de l'os.

Au point de vue physiologique, il faut entendre par déminéralisation, une élimination parallèle du phosphore et du calcium, supérieure aux quantités ingérées, c'est-à-dire une déperdition de ces deux éléments. Il n'est pas nécessaire que l'excrétion soit abondante pour qu'il y ait déperdition de phosphore ou de calcium ; il y a des déperditions dues précisément, nous le verrons, à l'insuffisance de l'ingestion d'un de ces deux éléments. Celle-ci ne peut alors compenser les pertes résultant de la destruction quotidienne des constituants phosphorés ou calciques endogènes.

De nombreuses observations cliniques ont montré, en particulier, que les maladies qui s'accompagnent de dénutrition, surtout celles au cours desquelles la fonte tissulaire, avec élimination d'azote, est la règle, comportent presque toujours une déperdition de phosphore.

De même, au cours des maladies des os, ostéoporose, ostéomalacie, rachitisme clinique ou expérimental, il existe toujours une élimination exagérée de phosphore, résultat d'une déminéralisation du squelette.

Cette perte en phosphore se fait, selon toute probabilité, aux dépens des phosphates osseux.

D'après les résultats que nous avons rapportés dans la première partie de ce travail, nous estimons qu'elle peut se faire chez l'animal adulte, au début tout au moins, aux dépens des réserves minérales, tandis que chez l'animal en croissance, elle se fait immédiatement aux dépens du tissu osseux fondamental.

Etant donné l'intérêt que présente le choix d'un régime dans l'évolution des dystrophies osseuses, et d'une façon générale dans la déminéralisation de l'organisme, nous ne croyons pas inutile, avant d'aborder l'étude expérimentale proprement dite, de rappeler les facteurs susceptibles d'intervenir dans l'efficacité déminéralisante et rachitigène d'un régime. C'est ce que nous allons développer au cours de ce chapitre.

A. — DIFFERENTS FACTEURS ALIMENTAIRES DES DYSTROPHIES OSSEUSES ET DE LA DEMINERALISATION DE L'ORGANISME

Il est universellement admis, à l'heure actuelle, que la cause primordiale des dystrophies osseuses, d'origine expérimentale au moins, réside dans un déséquilibre en calcium et surtout en phosphore, de l'alimentation.

Dès 1842, Chossat (43), dans sa note à l'Académie des Sciences « sur le système osseux », mit en lumière l'effet d'une alimentation pauvre en calcium sur le Pi-

geon, chez lequel il observe « un système osseux atténué insensiblement et un état dit de *fragilité des os* ».

En 1876, Forster (44), en Allemagne, observe sur des Chiens recevant une nourriture pauvre en calcium et normale par ailleurs, une décalcification du squelette avec diminution des teneurs en phosphore et en calcium des os.

En 1921, Korenchevsky (45), en Angleterre, réussit encore à provoquer des lésions osseuses chez l'animal jeune soumis à un régime carencé en calcium.

Jusqu'à cette époque, le rôle de la carence en phosphore dans la production du rachitisme expérimental était mis en doute, ou tout au moins largement subordonné à celui du calcium.

Les travaux publiés par Mac Collum, Simmonds, Shipley et Parks (46) et par Shermann et Pappenheimer (47) ont montré que de jeunes Rats en voie de croissance, placés dans l'obscurité et soumis à un régime par ailleurs équilibré, mais dans lequel le phosphore est particulièrement déficient, font à coup sûr du rachitisme.

D'après ces dernières expériences, le rôle de l'ion phosphore apparaît considérable ; à l'heure actuelle on considère qu'il est indispensable dans la fixation du calcium dans le squelette. Nous rapportons, à ce sujet, l'opinion de Mouriquand (48).

« Le manque de phosphore compromet la nutrition osseuse au cours du rachitisme expérimental ; tout se passe comme si sa présence était nécessaire pour que (au moins chez les animaux privés de lumière) la calcification des cartilages ait lieu, rendant possible

« une ostéogénèse normale. Dans ce cas, le phosphore
« agirait non seulement par sa quantité (les expériences
« montrent qu'une quantité donnée est nécessaire), mais
« aussi par sa qualité, par sa présence et, en quelque
« sorte, comme catalyseur ».

En somme, le Calcium et le Phosphore paraissent jouer un rôle fondamental dans l'ostéogénèse. Ceci n'est pas pour nous étonner, étant donnée, ainsi que nous l'avons vu au cours de notre introduction, la présence constante de ces deux éléments dans le complexe minéral de l'os.

En réalité, ce n'est pas tant la déficience en l'un ou l'autre de ces facteurs qu'il faut incriminer dans l'apparition des troubles de l'ossification, que les modifications de leur rapport.

D'ailleurs, l'importance de ce rapport, sans avoir été explicitement affirmée, avait été découverte en somme, soit à la suite des travaux de Chossat, de Forster, etc., soit à la suite de ceux de Wegner (49) ou de Kassowitz (50) qui, en 1872 et 1884, déterminaient le rachitisme chez des animaux recevant une ration équilibrée par ailleurs, mais additionnée de fortes doses de phosphore.

Ce n'est cependant qu'à la suite des travaux de Mac Collum et de ses collaborateurs, que la question de l'influence du rapport Ca/P sur la calcification des cartilages et sur l'ossification des os, a été mise au point. Selon cet auteur, dès que le rapport devient plus grand que 1-1,5, le rachitisme apparaît, le chiffre de rapport limite oscillant entre 1 et 2. Aussi, dans les régimes rachitigènes préconisés, porte-t-on délibérément ce rapport à un taux nettement supérieur : 3 à 6.

Cependant, malgré l'importance conférée depuis les travaux de Mac Collum, aux valeurs du rapport Ca/P, certains auteurs font remarquer, à juste titre, que l'efficacité rachitigène d'un régime n'est pas indépendante des valeurs absolues de Ca et de P ; car ces valeurs expriment un besoin quantitatif de l'organisme pour l'élaboration du tissu osseux fondamental ou des réserves minérales.

C'est ainsi que récemment (1932) Shohl, Brown, Rose et Sauerwein (51) ont montré, à la suite d'expériences sur le rachitisme chez le Rat, que lorsque la valeur de Ca et de P varie, leur rapport restant le même, le rachitisme varie dans le même sens ; qu'en outre, pour chaque valeur de Ca un rapport différent est nécessaire pour déterminer l'apparition des lésions.

Enfin, un autre facteur non moins important pour assurer l'efficacité rachitigène d'un régime est sa carence en vitamine D.

En 1918, Mellanby (52), expérimentant sur le Chien à l'aide de régimes variés et basant ses résultats sur une série d'examen (cliniques, radiographiques, histologiques et chimiques) considère que le rachitisme est dû à la carence en liposoluble. En effet, les lésions osseuses ainsi déclenchées régressent à la suite de l'adjonction au régime de certaines graisses et, en particulier, d'huile de poisson. Les graisses employées par Mellanby étant riches en facteurs liposolubles A, il prétendit expliquer le rachitisme par une carence en facteur A.

Mais, en 1921, les auteurs américains, Mac Collum Simmonds, Shippley (53), d'une part ; Hess, Mac Cann

et Pappenheimer (54), d'autre part, montrèrent qu'il n'en était rien et que l'adjonction au régime rachitigène d'une certaine quantité de beurre (riche en vitamine A) n'empêche pas l'apparition du rachitisme, non plus d'ailleurs que l'adjonction de levure (vitamine B) ou de jus d'oranges (vitamine C). Par contre, ils montrèrent que le déséquilibre minéral, causé par une valeur défectueuse du rapport Ca/P dans le régime peut être guéri par adjonction d'huile de foie de morue (vitamine D).

Donc, trois facteurs jouent un rôle important dans l'éclosion du rachitisme expérimental : déficience en calcium ou en phosphore, trouble du rapport Ca/P, carence en vitamine D.

Il nous semble cependant que ce qui paraît influencer le plus directement la décalcification observée dans le rachitisme lui-même, c'est la plus ou moins grande acidité des cendres du régime.

Tous les régimes acidogènes, ainsi que les régimes alcalins sont capables, par des processus différents sans doute, de troubler l'ossification et de provoquer la déminéralisation. Ce fait se trouve d'ailleurs implicitement exprimé dans la première des conditions requises pour l'efficacité d'un régime rachitigène : quand le rapport Ca/P est très élevé, le régime est très alcalin ; quand le rapport Ca/P est bas, le régime est acide. Les expériences récentes (1934) de Brooke Smith et Smith en Amérique (21) ; celle de Mareck, Welhmann et Urbanyi (22) en Allemagne ont mis ce fait en lumière.

Il nous paraît utile d'insister sur la signification de cette notion souvent mal interprétée.

L'alcalinité des cendres d'un régime peut être provoquée, non seulement par un excès de calcium, mais encore par un excès d'un des métaux du même groupe : strontium ou magnésium. De sorte que l'efficacité rachitigène d'un régime est d'autant plus grande que le rapport Ca/P, ou plus exactement alcalino-terreux/P, est plus grand. En outre, tandis qu'un régime dans lequel ce rapport est compris entre 2 et 3 suffit pour déterminer le rachitisme chez de jeunes Rats, il faut que ce rapport atteigne de 5 à 6 pour provoquer des dystrophies osseuses chez des Rats préadultes ou adultes.

Inversement, un régime peut être rendu acidotique soit par adjonction de phosphate monosodique ou de glycérophosphate de soude, soit par addition d'un acide fort (acide chlorhydrique, par exemple) ou d'un sel d'acide fort avec l'ammoniaque (chlorure d'ammonium).

Dans le premier cas, les phosphates ou glycérophosphates sodiques, ayant des valences acides libres déterminent un abaissement du pH des humeurs. Le même résultat s'obtient par l'ingestion de chlorure d'ammonium qui est décomposé dans l'organisme en mettant en liberté des ions Cl, tandis que l'ammonium est éliminé sous forme d'urée au cours du métabolisme.

D'autre part, tout régime ou toute réaction de l'organisme susceptible de provoquer un état d'acidose des humeurs, détermine une déminéralisation du squelette. C'est ainsi que chez l'enfant on peut voir apparaître des lésions rachitiques à la suite de néphrites ou de diabète précoce. Ces mêmes maladies ne provoqueraient chez l'adulte qu'une simple déminéralisation. Bien que l'accord ne soit pas pleinement réalisé sur ce sujet, il semble

vraisemblable qu'une relation étroite existe entre la réserve alcaline et la déperdition des phosphates osseux.

En effet, malgré les travaux de Rona et Takahashi (55), ceux de Freudenberg et Gyorgy (56), ceux de Blum, Delaville et Van Cauwaert (57), qui tendent à montrer l'effet d'une acidose sur la déminéralisation, certains auteurs, en particulier Denis et Minot (58), Fabrikant et Labbé (59), s'opposent à voir une relation entre la déperdition calcique et la réserve alcaline. Cependant, il n'est pas encore prouvé irréfutablement que les phosphates de l'os n'interviennent pas, grâce à leur pouvoir tampon, grâce à leur « seuil » au niveau des reins, pour assurer l'équilibre acide-base de l'organisme toutes les fois que cet équilibre est troublé. Et ce trouble de la réserve alcaline peut être provoqué, expérimentalement comme nous l'avons vu, soit par l'ingestion d'acides (HCl) ou de substances acidifiantes (AmCl), soit par l'ingestion d'un régime de dénutrition (régime sans azote, par exemple).

En résumé, selon l'opinion généralement admise à l'heure actuelle, l'efficacité d'un régime rachitigène dépend de trois facteurs primordiaux :

1° *D'un trouble dans le rapport entre le calcium et le phosphore alimentaires et d'un besoin quantitatif de l'un et l'autre de ces deux éléments.*

2° *De l'absence d'un facteur spécial contenu dans l'huile de foie de morue, lequel possède une influence profonde sur la calcification du cartilage et l'ossification des os : la vitamine D.*

3° *De la réaction plus ou moins acide provoquée dans les humeurs par l'ingestion du régime.*

**B. — REGIMES SUSCEPTIBLES
DE PROVOQUER DES DYSTROPHIES OSSEUSES
OU UNE DEMINERALISATION**

Ces différentes considérations ont guidé les biochimistes lors de l'établissement des régimes carencés. Cependant, les divers facteurs susceptibles de provoquer des dystrophies osseuses ont, sur celles-ci, une action relative bien différente suivant que l'on s'adresse à des animaux en croissance ou à des animaux pré-adultes ou adultes.

Dans le premier cas, en effet, et dans ce cas seulement, les animaux seront susceptibles de contracter des lésions rachitiques vraies (pouvant être guéries par la vitamine D); la croissance de leur squelette se fera alors d'une façon anormale.

Dans le second cas, au contraire, l'expérience s'adresse à un squelette déjà constitué. Les différents régimes peuvent provoquer seulement une déminéralisation sans lésions osseuses à proprement parler (régimes de dénutrition) ou une déminéralisation intense avec lésion du squelette (régime particulièrement déséquilibré en sels et avitaminé).

Au cours de nos expériences, nous avons utilisé deux groupes de régimes :

D'une part, les régimes déséquilibrés en sels et avi-

taminés (régime Randoïn-Lecoq, régime 85 de Pappenheimer).

D'autre part, les régimes de dénutrition, régime sans azote ou sans azote et sans phosphore).

I. — CHOIX ET PRÉPARATION D'UN RÉGIME DÉSÉQUILIBRÉ.
EN SELS ET AVITAMINÉ.

Nous avons pris des régimes différents suivant que nous nous sommes adressé à des Rats en croissance ou à des Rats adultes. Nous avons utilisé, dans le premier cas, le régime Randoïn-Lecoq ; dans le second cas, le régime 85 de Pappenheimer, tous deux déséquilibrés en sels, le premier étant, en outre, plus particulièrement pauvre en vitamine D.

a) *Régime utilisé pour les Rats en croissance.*

Nous avons soumis nos animaux en croissance au régime alcalin et avitaminé de Randoïn-Lecoq (60-61). Dans un cas examiné séparément, nous avons étudié l'effet du régime RL avitaminé, mais acidifié par 4 % de glycéro-phosphate de soude.

Préparation du Régime Rachitigène pur (RL).

Nous en rappelons brièvement la composition :

Peptone de muscle	17 parties
Levure de bière sèche	3 »
Graisse de beurre purifiée	5 »
Huile d'olive	5 »

Saccharose	65	»
Mélange salin spécial	4	»
Lactate de chaux	1	»
Aliment encombrant	5	%

Le mélange salin utilisé est celui de Pappenheimer qui comprend pour 100 grammes de régime :

Chlorure de potassium	0,85
Carbonate de soude	0,85
Lactate de chaux	2
Citrate de fer	0,1
Iodure de potassium	0,0002
Sulfate de manganèse	0,00078
Chlorure de sodium	0,00024
Alun de potassium	0,00024

Le beurre est purifié de la façon suivante :

Il est fondu à 40°, en présence de 7 à 8 fois son poids d'eau distillée ; après refroidissement, l'eau devenue laiteuse est vidée et remplacée par de l'eau propre. Cette opération est répétée jusqu'à ce que la dernière eau ajoutée soit aussi limpide avant le chauffage qu'après refroidissement. En général, tous les constituants hydrosolubles du beurre sont éliminés après cinq ou six lavages.

Les autres produits contenus dans le régime sont utilisés tels qu'on les trouve dans le commerce. L'aliment encombrant utilisé est le papier filtre.

Un tel régime contient en moyenne par gr. 1 mgr. 63 de phosphore, ainsi que nous l'avons établi par un dosage fait en double sur 1-2 gr. de régime, chaque fois

minéralisés en présence d'acide sulfurique et du mélange catalyseur sulfate de cuivre - sulfate de potasse.

Le calcium variant d'après les données d'un des auteurs (62) entre 4,2 et 4,5 mgr. par gr., il s'ensuit que le rapport Ca/P du régime varie entre 2,6 et 2,8. Par ailleurs, ce régime contient des quantités normales de vitamines A, B, C, mais est privé de vitamine D.

Grâce au déséquilibre du rapport Ca/P de ce régime et à l'absence de vitamine D, il est possible de provoquer, chez de jeunes Rats, une déminéralisation de l'organisme et l'apparition de lésions rachitiques.

Préparation d'un Régime Rachitigène acidogène.

Nous avons obtenu un tel régime en ajoutant au régime RL, 4 % de glycérophosphate de soude. Dans ces conditions, le rapport Ca/P devient 0,75/0,80. Ce régime est riche en phosphore et en calcium, carencé en vitamine D et susceptible de provoquer, par suite de la surcharge en sels et plus particulièrement en ions acides, des troubles de l'ossification plus graves que le régime précédent.

b) Régimes utilisés pour les Rats préadultes et adultes.

Le rôle de la ration sur la composition chimique des os de Rats adultes et préadultes ne peut être que très différent de celui observé sur les constituants de l'os de Rats en croissance.

Les différents régimes vont déterminer, non plus une formation anormale du tissu osseux en train de se constituer, mais une destruction partielle d'un squelette déjà formé.

Nous aurons, d'ailleurs, l'occasion de revenir sur ce point dans la discussion de nos résultats.

Les modifications ne sont pas moins intéressantes à connaître pour le biochimiste. Leur étude constitue une partie de nos recherches poursuivies sur l'animal pré-adulte ou adulte.

La base du régime déséquilibré en sels et avitaminé que nous avons utilisée pour les animaux adultes est le régime 85 de Pappenheimer, dont nous rappelons rapidement la composition.

Ce régime se compose du mélange suivant :

Farine de blé	81 parties
Albumine d'œuf	10 »
Beurre	5 »
Sels	4 »
Sciure ou papier filtre	5 »

La farine que nous avons utilisée est celle que l'on désigne dans le commerce sous le nom de « fleur de farine » ; obtenue avec la partie la plus interne du grain, c'est la moins riche en phosphore.

L'albumine d'œuf a été purifiée à partir de l'ovalbumine du commerce, primitivement dissoute dans trois fois son volume d'eau ; elle a été précipitée de cette solution par 1/3 de son volume d'alcool à 95° ; le coagulum a été recueilli sur un filtre où il a été lavé à plusieurs reprises par de l'alcool à 95°. Après une évaporation à l'air pendant 24 heures, l'ovalbumine a été placée à l'étuve à 37° pendant 2 jours. Au bout de ce temps, nous avons obtenu une masse cornée que nous avons pulvérisée par mouture.

Le beurre a été purifié suivant la technique exposée page 87.

Ce régime est équilibré en protéines, en glucides et en lipides; ceux-ci contiennent la vitamine A. Il est complété en vitamines B et C données sous forme d'extrait de levure de bière et de jus de citron. Il est, par contre, exempt de vitamine D.

Nous avons déterminé la quantité de phosphore de ce régime. Les valeurs obtenues pour trois stocks différents ont été respectivement :

3 mgr. 75 pour 1 gr. de régime

3 mgr. 78 — —

4 mgr. — —

Le régime 85 est susceptible de provoquer des lésions rachitiques sur les jeunes Rats. Son action sur le squelette d'animaux adultes ou préadultes est plus douteuse. On sait, en effet, qu'il est relativement facile de provoquer des lésions rachitiques chez des animaux dont la courbe de poids progresse normalement. Pour provoquer des dystrophies osseuses en l'absence de toute croissance notable, il faut un déséquilibre en sels plus considérable.

Les travaux de Lenherdt (63), ceux de Shippley et Mac Collum (64), repris par Mouriquand, Leulier et leurs collaborateurs (65), avaient fait croire à une spécificité du strontium dans les dystrophies osseuses, en particulier chez l'adulte.

En effet, pour Lenherdt, le strontium avait une action *décalcifiante* au sens propre du mot, c'est-à-dire que ce métal se substituerait au calcium dans l'os. Or, au cours

de l'intoxication par le strontium, la teneur des os en acide phosphorique et en calcium est très diminuée (Cagnetto).

D'autre part, Mouriquand, Leulier et Nogier (66) ont montré que le strontium ne se fixe pas dans le tissu osseux normal et que, lorsqu'il est apporté en grande quantité dans la ration, il ne se fixe dans le tissu rachitique qu'exceptionnellement et à l'état de traces infinitésimales, indécélables par l'analyse chimique, décelables seulement par la spectrographie.

En réalité, les dystrophies osseuses provoquées par le strontium n'ont pas un caractère spécifique. Cet élément n'agit pas, uniquement tout au moins, comme un toxique de l'os, mais parce qu'il déséquilibre fortement la composition en sels du régime. Les travaux de A. Roche (67) sur les bilans phosphorés des animaux soumis à un régime surchargé en calcium, strontium ou magnésium, ne laissent plus de doute à ce sujet. Ce régime détermine, en même temps qu'une élimination phosphorée considérable, des dystrophies osseuses chez l'animal préadulte ou adulte, beaucoup plus graves que le régime 85 seul.

Nous basant sur ces considérations, nous avons soumis nos animaux préadultes ou adultes au régime 85 de Pappenheimer, additionné soit de strontium, soit de calcium. Ainsi modifié, ce nouveau régime a un rapport Ca/P ou alcalino-terreux/P variant de 5 à 6.

II. — CHOIX ET PRÉPARATION D'UN RÉGIME DE DÉNUTRITION.

Nous avons rappelé, il y a quelques instants, que dans les états dits de dénutrition (cancer, diabète grave, etc.) caractérisés par une fonte tissulaire intense, l'élimination exagérée de l'azote va de pair avec l'élimination phosphorée, celle-ci étant probablement déterminée par l'acidose des humeurs. Au point de vue expérimental, l'inanition protéique détermine, suivant les recherches de A. Roche (68), une fonte tissulaire aux dépens des protéines du protoplasme. Etant donné, en outre, l'état d'acidose déterminé par un tel régime, nous pouvions nous demander, d'une part, si la protéine osseuse était elle-même disloquée ; d'autre part, dans quelle mesure les réserves minérales participent à la perte de poids observée au cours de l'expérience.

Voici quelle est la composition de ce régime :

Amidon	70 gr.
Beurre lavé	30 gr.
Mélange salin d'Osborne	5 gr.
Sciure lavée	5 gr.

Le beurre a été lavé suivant la méthode déjà décrite. La sciure a été privée de ses impuretés par macération dans de la soude à 10 %, puis par un lavage abondant. Les vitamines B, C, A, D ont été données sous forme de levure de bière, de jus de citron et d'huile de foie de morue, à la dose de deux gouttes tous les 3 jours.

la vitamine A existe en outre dans le beurre. Un tel régime apporte en quantité suffisante des glucides, des lipides, des sels et des vitamines ; les animaux en consomment *ad libitum*.

Un animal examiné séparément a été soumis à ce même régime, dans lequel le mélange salin d'Osborne a été remplacé par le mélange salin de Pappenheimer, privé de phosphore. Un tel régime, déséquilibré à la fois en phosphore et en azote, se trouve appartenir aux deux groupes de régime que nous avons utilisés dans la suite de nos expériences et susceptible de provoquer des lésions rachitiques et une déminéralisation de l'organisme. Nous verrons comment les animaux réagissent à ce régime d'une façon, au premier abord, paradoxale.

Dans les chapitres qui vont suivre, nous étudierons successivement les modifications de la composition chimique des os provoquées par les différents régimes. L'étude, à la fois de la teneur en eau, en azote, en phosphore et du P/N, nous permettra, pensons-nous de considérer dans quelle mesure ces modifications intéressent le tissu osseux fondamental ou les réserves minérales.

Nous exposerons successivement :

L'effet d'un régime déséquilibré en sels, chez les animaux adultes ou préadultes, alors que ce régime est privé ou additionné de vitamine D.

L'effet d'un régime de dénutrition (inanition protéique) équilibré ou non en sels, chez les animaux adultes.

II. Etude du phosphore, de l'azote et du rapport P/N de l'os chez le Rat en croissance soumis à un régime rachitigène.

On trouvera dans ce chapitre l'ensemble des données expérimentales qu'il nous a été possible d'obtenir sur les Rats en croissance, soumis à un régime rachitigène.

Nous les avons comparées à celles obtenues chez des Rats normaux appartenant, dans la mesure du possible, à la même portée, et pesant tous le même poids, au moment de la mise en expérience. Afin de placer les animaux soumis au régime déséquilibré en sels, dans les mêmes conditions d'existence que les Rats du chenil, nous les avons laissé vivre normalement à la lumière diffuse, ce qui nous a permis de déterminer le rôle précis du seul déséquilibre alimentaire, dans les modifications de la composition chimique de l'os malade, ou en voie de guérison spontanée, comparativement à celle des os d'animaux normaux.

EXPÉRIENCE A L'AIDE DU RÉGIME RANDOIN-LECOQ PUR

Des Rats âgés de 20 à 22 jours, au début de l'expérience, ont été sacrifiés respectivement après 4, 6, 9, 12, 20, 25, 33 et 54 jours de régime. Ces animaux ont été mis dans des cages à double fond. Ce dispositif assure l'évacuation instantanée des excréments et de l'urine, en vue, non seulement d'une bonne tenue de la cage, mais surtout pour prévenir la tendance des animaux en expérience à la coprophagie et à l'ingestion de leur urine. Dans le cas d'alimentation carencée, il a été en effet remarqué par de nombreux auteurs, que les animaux étaient instinctivement poussés à rechercher dans leurs déjections les substances qu'ils ne trouvaient pas dans leur nourriture. En particulier, leur urine fortement chargée en sels, comme le prouvent les dépôts observés, aurait été pour eux une source minérale dont ils auraient usé pour couvrir une partie de leurs besoins.

Nos différentes données expérimentales portent :

- 1° sur la courbe de poids des animaux,
- 2° sur les examens radiographiques des lésions,
- 3° sur les examens chimiques des os (teneur en eau, en azote, en phosphore, rapport P/N).

I. — COURBE DE POIDS DES ANIMAUX.

La courbe de poids des animaux a été suivie tous les deux jours et comparée à celle des animaux du chenil pris comme témoins.

Nos expériences ont été effectuées sur deux séries de Rats appartenant à deux portées différentes. Les Rats de la première série ont été mis en expérience, alors qu'ils pesaient de 32 à 35 grammes; ceux de la seconde, de 37 à 42 grammes. C'est à ces différences de poids initiales que nous imputons les quelques divergences que nous avons observées au début des expériences.

En effet, tandis que la deuxième série d'animaux n'a manifesté aucune gêne, à la suite de la mise en cage et du changement de régime, les Rats de la première série ont maigri pendant les six premiers jours — temps au bout duquel la croissance a repris normalement. Il est fort probable que les animaux, dont le poids varie entre 30 et 35 grammes, s'adaptent plus difficilement à un régime, non pas parce que le régime d'expérience a des caractères organoleptiques ou une valeur nutritive différents de la nourriture de chenil, mais parce qu'ils éprouvent des difficultés à subvenir, au début, à leurs propres besoins, sans le secours du lait maternel. Quoique moins accentué que chez les animaux en expérience, l'amaigrissement consécutif au sevrage s'est produit également pour les animaux du chenil, comme l'indique la courbe. Les Rats de la série I étaient cependant en excellent état de santé; l'examen radiologique

du Rat-témoin 71 N et son examen chimique nous ont permis de nous en assurer.

A la suite de cet examen, sur lequel nous reviendrons tout à l'heure, il nous est permis d'affirmer, qu'au moment de la mise en expérience, l'état physiologique de la portée est normal ; les lésions obtenues par la suite étant uniquement déterminées par le déséquilibre alimentaire (déficience en phosphore, avitaminose D).

On peut donc dire que celui-ci n'a aucune influence sur la croissance des animaux jusqu'au 35^e jour d'expérience, date à laquelle les Rats atteignent l'âge de trois mois approximativement. Un troisième essai, effectué sur des animaux qui ne figurent pas dans ces expériences, a confirmé ces faits.

Au bout de 35 jours d'expérience, les Rats du chenil pesaient, l'un 90 grammes, l'autre 93 grammes, tandis que les Rats nourris au régime RL, en pesaient 92. Mais, à partir de cette époque, la croissance s'est ralentie, entraînant des fluctuations dans la courbe pondérale de l'animal. Pendant 15 jours, le poids est oscillant, les pesées accusant 3 ou 4 grammes de plus ou de moins que la pesée précédente ou que la suivante. Ce n'est qu'au bout de 22 jours que l'animal a continué à progresser régulièrement, époque à laquelle nous avons arrêté l'expérience.

Nous rappelons que nous avons noté cet arrêt, ou plus exactement ce ralentissement de la croissance chez les animaux normaux qui présentent également pendant quelque temps des oscillations de poids. Nous en avons fait remarquer la répercussion sur les variations du P/N de l'os. Il est caractéristique du stade préadulte,

dont nous nous occuperons d'une façon plus particulière dans le chapitre suivant. Mais, tandis que chez l'animal normal, le palier ne dure que 6 à 8 jours au plus, chez l'animal privé de phosphore il dure de 15 à 18 jours.

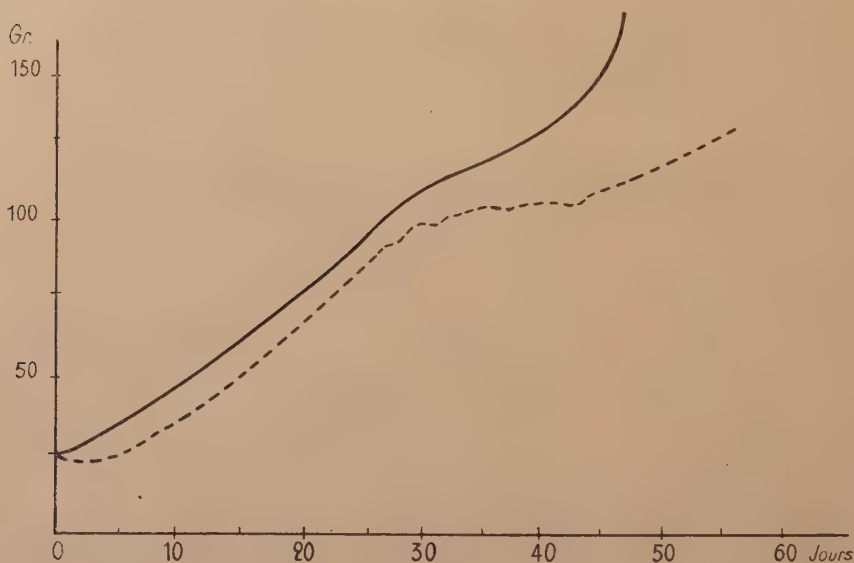


FIG. V. — *Croissance comparée d'animaux normaux et d'animaux nourris au régime RL.*

Abscisses : durées d'expériences.

Ordonnées : poids des animaux.

———— Animaux normaux.

----- Au régime RL.

Nous avons tracé, ci-dessous, 2 courbes de poids en fonction de la durée d'expérience. L'une relative à une moyenne de Rats normaux, l'autre à celle des 2 séries de Rats nourris au régime RL.

L'arrêt momentané de la croissance, observé dans la première série, a eu pour conséquence de décaler, comme nous le verrons tout à l'heure, l'apparition des lésions rachitiques dans les deux séries.

II. — EXAMENS RADIOGRAPHIQUES ⁽¹⁾ ET ANATOMO-MACROSCOPIQUES.

Nous avons examiné radiographiquement les animaux, après les avoir asphyxiés sous la cloche à gaz d'éclairage. Les examens plus précis portent sur des tibias disséqués. Nous nous attacherons particulièrement à ces derniers. Les gravures rassemblées dans les planches I à III en fin du volume aideront à suivre l'évolution des lésions et leur guérison spontanée.

RAT 71 N — série I. Animal témoin appartenant à la même portée que les Rats R 73, 74, etc.

Aucune lésion visible ni sur l'animal total, ni sur l'os lui-même ; le cartilage de conjugaison n'atteint pas 1 ^m/_m d'épaisseur.

RAT 80 R — série II, 4 jours d'expérience.

L'examen radiographique du tibia montre une extrémité proximale de celui-ci élargie ; présence d'ostéo-

(1) Nous remercions vivement le Docteur Dubouloz, médecin radiologue des Hôpitaux de Marseille, qui a bien voulu se charger de faire exécuter, dans son service, les différents examens radiographiques rapportés dans ce travail.

phytes à la partie extérieure. Limite de la diaphyse inférieure en cupule, cartilage de conjugaison légèrement supérieur à $1 \text{ }^{\text{m}}/\text{m}$.

A l'autopsie : Pas de chapelet costal — épiphyse des fémurs et de tibias, de consistance molle — hypertrophie nette du cartilage de conjugaison — vascularisation interne de la zone spongieuse.

Conclusion : Rachitisme net.

RAT 74 R — série I, 6 jours d'expérience.

Examen radiographique du tibia : peu de lésions. Cartilage de conjugaison peu différent de $1 \text{ }^{\text{m}}/\text{m}$. Limite de la diaphyse inférieure en cupule.

Autopsie : Pas de chapelet costal. A la coupe, l'os est mou, le cartilage de conjugaison est peu élargi, mais la ligne d'ossification est sinueuse.

Conclusion : Rachitisme léger, mais net.

On remarquera, à propos des Rats R 74 et R 80, l'influence retardante d'un arrêt de croissance sur l'apparition des lésions rachitiques. Nous rappelons, en effet, que R 80, de la série II, a une courbe pondérale normalement ascendante, malgré le régime, tandis que R 74 a maigri, au cours de l'expérience. Ce retard dans l'évolution des lésions, dû, selon toute probabilité, à un défaut de croissance, ne fait que confirmer les nombreuses observations faites, en particulier en France par Marfan (69), Mouriquand et Leulier (48). Ces auteurs ont, en effet, insisté sur le fait qu'expérimentalement, le rachitisme ne peut être obtenu que

si la courbe pondérale des animaux progresse normalement.

La croissance entraîne un appel calcique et phosphoré important qui permet la calcification du cartilage néoformé. Dans le cas où l'animal reçoit une nourriture déséquilibrée en sels, le calcium et le phosphore ne forment pas des combinaisons qui permettent leur fixation au niveau du cartilage, et les lésions rachitiques évoluent.

RAT R 77 — série I, 9 jours d'expérience.

Examen radiographique : Extrémité proximale du tibia, très élargie, avec ostéophytes nettes à sa partie extérieure. L'épaisseur du cartilage de conjugaison atteint 2 $\frac{\text{m}}{\text{m}}$.

A l'autopsie : Os tendre, facilement entamable par le bistouri — cartilage élargi et nacré. Vascularisation intense du tissu spongieux.

Conclusion : Rachitisme sévère.

RAT R 81 — série II, 9 jours d'expérience.

Examen radiographique : Extrémité proximale de la diaphyse élargie. Epaisseur du cartilage de conjugaison : 1 $\frac{\text{m}}{\text{m}}$ $\frac{1}{2}$ — son union à la diaphyse est très irrégulière.

A l'autopsie : Examen précédent confirmé. Os friable. Vascularisation intense, cartilage très élargi, ligne d'ossification finement dentelée. Péroné déformé.

Conclusion : Rachitisme sévère.

RAT R 76 — série I, 12 jours d'expérience.

Examen radiographique : Lésions typiques du rachitisme, cartilage de conjugaison de 2 ^m/_m, déformation en cupule de l'extrémité diaphysaire. Déformation du péroné.

A l'autopsie : Os friable, se coupant facilement — articulations des genoux tuméfiées — cartilage élargi, tissu spongieux richement vascularisé.

Conclusion : Rachitisme grave.

RAT R 79 — série I, 16 jours d'expérience.

A la radio et à l'autopsie, l'examen révèle des lésions de même gravité que celles du Rat précédent.

RAT R 72 — série I, 20 jours d'expérience.

Examen radiographique : Aspect anormal — épaisseur du cartilage de conjugaison atteint 2 mm. 1/2 — bien limité soit du côté de l'épiphyse, soit du côté de la diaphyse, par un ligne osseuse nette. *Une zone de calcification irrégulière et floue occupe le milieu du cartilage.*

A l'autopsie : os moins friable que le précédent, la ligne d'ossification est linéaire et transparente ; au-dessous on devine l'ancien cartilage légèrement calcifié

Conclusion : premier stade de guérison spontanée d'un rachitisme sévère.

RATS R 75 et R 85 — 25 jours d'expérience. Aspect identique au précédent, mais stade de calcification plus avancé, particulièrement chez R 85 — on devine encore les anciennes limites du cartilage (dont l'épaisseur a atteint 3 mm. chez le Rat R 73), mais la densité plus grande de l'ombre les rend moins nettes. On trouve encore, au milieu du cartilage, une zone d'ossification plus dense que sur les bords.

A l'autopsie : L'os est dur, la limite de l'ancien cartilage et de la diaphyse ne se distingue plus.

Conclusion : stade de guérison plus avancée, d'un rachitisme sévère.

RAT R 82 — série II, 33 jours d'expérience.

Examen radiographique. : Epaisseur normale du cartilage de conjugaison. Zone osseuse diaphysaire immédiatement sous-jacente, est calcifiée, mais encore d'une façon irrégulière.

RAT R 84 — série II, 53 jours d'expérience.

L'os n'a pas été radiographié. A la coupe, il offrait une grande résistance au bistouri. La limite de l'ancien cartilage et de la diaphyse ne se distingue plus.

En résumé : L'examen radiographique montre chez nos différents animaux, à partir du 4^e jour d'expérience, une aggravation progressive des lésions au niveau de

l'os, dont le maximum est marqué chez le Rat R 79, après 16 jours d'expérience. A partir du 20^e jour, les premiers symptômes de calcification spontanée apparaissent et continuent à s'accroître jusqu'à la fin de l'expérience. Il est cependant intéressant de noter, qu'à côté de cette tendance à la calcification, on constate chez le Rat R 72 et même chez le Rat R 73, tenus en expérience pendant 25 jours, et chez lesquels la calcification s'accroît d'une façon indiscutable, un élargissement du cartilage de conjugaison considérable 2 mm. 1/2 chez l'un, 3 mm. chez ce dernier, supérieur à celui observé chez le Rat R 79 chez lequel il n'est pas encore apparu de traces de dépôts minéraux.

Le cas du Rat R 72 pourrait trouver une explication du fait que, entre le 16^e et 19^e jours, les lésions ont pu continuer à s'aggraver (jusqu'à déterminer un élargissement du cartilage de 2 mm. 1/2), puis qu'elles ont régressé — régression marquée par la fixation de calcium. Mais, comment expliquer le cas du Rat R 73 qui, en même temps qu'un accroissement du cartilage conjugal, par rapport aux Rats R 79 et R 72, présente une condensation calcaire plus intense que celui-ci ? Ne serait-ce pas plutôt qu'il n'y a pas, à proprement parler, de relation aussi directe qu'on veut bien le dire, entre la calcification et la guérison des lésions rachitiques ?

Nous nous garderons de conclure à une question aussi importante, à la suite de ces seules considérations. Nous nous contenterons d'attirer l'attention sur ce fait, et nous espérons apporter dans la suite de nos expériences quelques résultats qui nous permettront de déterminer, d'une façon plus rigoureuse et plus précise,

le rôle de la calcification dans le rachitisme expérimental.

III. — EXAMENS CHIMIQUES

Nous avons étudié successivement les différentes données chimiques suivantes pour les différents os :

Le poids,
La teneur en eau,
La teneur en azote,
La teneur en phosphore,
Le rapport P/N.

1°) *Etude du poids des os.*

Nous avons réuni dans le tableau XI, en plaçant les animaux dans l'ordre de la durée d'expérience (4, 9, 12, 16, 20, 25, 33 et 53 jours), à la fois le poids des os frais, et celui des os secs.

Le poids des os n'offre pas de particularité bien marquée, si ce n'est qu'il suit davantage la taille des animaux, que leur âge. C'est ainsi que les Rats R 77 et R 81, qui ont tous deux la même durée d'expérience, mais qui, à la suite de circonstances que nous avons relatées au début du chapitre, ont des poids très

différents (R 77 pèse 39 grammes, tandis que R 53 en pèse 81) et ont de même des os de poids différents.

TABLEAU XI

*Poids des os de Rats en croissance soumis
au régime RL.*

Rats N°	Poids frais (gr.)			Poids secs (gr.)		
	FD	FG	TG	FD	FG	TG
R 80	0,188	0,178	0,141	0,063	0,062	0,055
R 77	0,187	0,167	0,148	0,052	0,044	0,052
R 81	0,228	0,232	0,173	0,144	0,160	0,123
R 76	0,200	0,202	0,153	0,074	0,069	0,061
R 79	0,205	0,204	0,176	0,064	0,068	0,065
R 72	0,263	0,262	0,238	0,095	0,082	0,093
R 73	0,280	0,272	0,203	0,109	0,097	0,079
R 85	0,316	0,313	0,235	0,128	0,118	0,098
R 82	0,278	0,301	0,213	0,144	0,161	0,123
R 84	0,406	0,397	0,307	0,226	0,219	0,190

2°) *Etude de la teneur en eau.*

L'étude des différentes données chimiques qui vont suivre a été faite comparativement à des Rats normaux recevant la nourriture du chenil et qui pesaient le même poids que les Rats soumis au régime RL, le jour de la mise en expérience.

Les différentes données relatives à la teneur en eau sont réunies dans le tableau XII.

TABLEAU XII

*Teneur en eau des os de Rats en croissance
nourris aux régimes Standard ou Randoin-Lecoq.*

Animaux au régime standard				Durée de l'exp. (jours)	Animaux au régime R L			
Rats N°	Eau (%)				Rats N°	Eau (%)		
	FD	FG	TD			FD	FG	TD
71 N	70	70	62	0		—	—	—
75 N	69	67	64	4	R 80	66	65	61
52 N	60	59	51	9	R 77	72	73	65
—	—	—	—	12	R 81	65	64	60
53 N	60	60	54	16	R 76	63	65	60
54 N	59	59	51	20	R 79	68	66	63
55 N	60	62	51	25	R 72	71	68	61
48 N	49	49	42	33	R 73	64	61	61
51 N	45	45	39	53	R 85	59	62	58
					R 82	52	53	42
					R 84	44	45	38

L'examen de ce tableau montre que les lésions osseuses entraînent une augmentation de la teneur en eau, résultat dû, sans doute, à une modification de la substance organique, soit au point de vue quantitatif (les teneurs en azote que nous examinerons tout à l'heure nous fournirons quelques renseignements à ce sujet), soit au point de vue qualitatif (modification du degré d'hydratation du collagène). Nous noterons cependant que cette modification apparaît après les lésions et non pas simultanément.

(*) Nous rappelons que le Rat 71 N est un Rat témoin de la série 1, dont les os ont été prélevés le jour de la mise en expérience des Rats 72 R, 73 R, etc...

C'est ainsi que le Rat R 80 a une teneur en eau normale et même légèrement supérieure à la normale comparative au Rat 75 N et cependant nous avons constaté à l'examen radiographique et à l'examen anatomoclinique l'existence d'un rachitisme net. Cette augmentation est maximum après 12 jours d'expérience; elle devient de moins en moins sensible à mesure que l'expérience se prolonge. Les Rats R 82 et R 84 ont atteint, après 33 et 53 jours d'expérience, une teneur en eau rigoureusement normale.

3°) Etude de l'Azote.

On trouvera dans le tableau XIII les quantités d'azote obtenues dans les différents prélèvements.

TABLEAU XIII

*Azote et Phosphore des os de Rats soumis
au régime RL.*

Rats N°	Azote (mgr.)			Phosphore (mgr.)		
	FD	FG	TG	FD	FG	TG
R 80	5,37	5,37	4,00	4,47	4,45	4,00
R 77	5,32	4,82	4,18	2,72	2,66	3,22
R 81	6,16	6,38	4,46	4,12	4,94	4,22
R 76	6,19	6,46	5,19	4,00	4,07	3,85
R 79	6,22	6,19	4,91	4,07	4,27	4,04
R 72	8,37	8,30	6,10	4,85	5,02	5,35
R 73	8,80	7,93	6,83	7,24	6,10	5,60
R 85	9,70	9,80	7,60	10,15	10,30	9,34
R 82	9,80	9,25	8,30	12,10	11,40	10,58
R 84	13,00	12,80	10,21	21,80	21,90	18,45

TABLEAU XIV

*Etude du taux d'Azote dans les os de Rats en croissance
soumis soit au régime standard, soit au régime RL.*

Rats au régime standard							Rats au régime R L							
Rats Nos	Azote						Durée de l'expér. (jours)	Rats Nos	Azote					
	% du poids frais			% du poids sec					% du poids frais			% du poids sec		
	FD	FG	TG	FD	FG	TG			FD	FG	TG	FD	FG	TG
71 N	2,40	2,20	2,50	8,20	7,50	6,70	0	R 80	2,85	3,01	2,84	8,51	8,65	7,28
75 N	2,60	2,70	2,75	8,50	7,80	7,80	4	R 77	2,85	2,88	2,89	10,24	10,95	7,84
52 N	3,00	2,84	2,69	7,64	6,93	5,44	9	R 81	2,70	2,75	2,69	7,79	7,68	6,46
"	"	"	"	"	"	"	12	R 76	3,09	3,22	3,48	9,36	8,36	8,50
53 N	"	2,91	2,83	7,60	7,60	7,05	16	R 79	3,10	3,09	2,96	9,74	9,10	7,96
54 N	2,32	3,13	2,56	5,70	7,78	5,35	20	R 72	3,17	3,16	2,38	8,81	10,31	6,48
55 N	3,12	"	3,44	7,46	"	6,68	25	R 73	3,14	2,91	3,41	8,17	8,07	8,77
48 N	3,38	3,34	3,44	6,60	6,66	5,95	33	R 85	3,07	3,13	3,23	8,30	6,13	7,74
51 N	3,17	3,14	3,24	5,83	5,71	5,24	53	R 82	3,65	3,07	3,52	6,60	7,31	6,77
								R 84	3,23	3,21	3,32	5,74	5,84	5,38

Les teneurs en azote en pour cent du poids frais et du poids sec des os, comparées à celles des os d'animaux, se trouvent réunies dans le tableau XIV.

L'examen de ce tableau montre que les variations du taux d'azote en fonction du poids frais, sont du

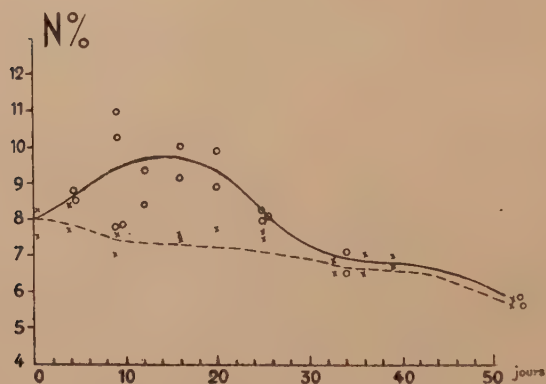


FIG. VI. — Variations de la teneur en azote (N % du poids sec) aux diverses périodes de l'expérience.

Rats normaux x-----

Rats au régime RL o ———

même ordre dans les deux lots d'animaux. Or, comme le poids des os est, en général, resté normal, nous pouvons conclure que l'augmentation que nous avons observée précédemment dans la teneur en eau ne provient pas d'une modification quantitative de la substance organique. Il est possible qu'elle provienne, dès lors, de modifications des propriétés physico-chimiques de celle-ci.

L'ensemble des données relatives au taux de l'azote

en fonction du poids sec des os, nous a permis de construire les courbes de la figure VI.

. Comme on le voit, cette valeur est fortement augmentée par rapport à celle des os normaux au début de l'expérience. Elle diminue ensuite et reprend sa valeur normale au 33^e jour d'expérience.

4°) Etude du Phosphore.

On trouvera dans le tableau XIII les quantités de phosphore contenues dans les différents os de Rats

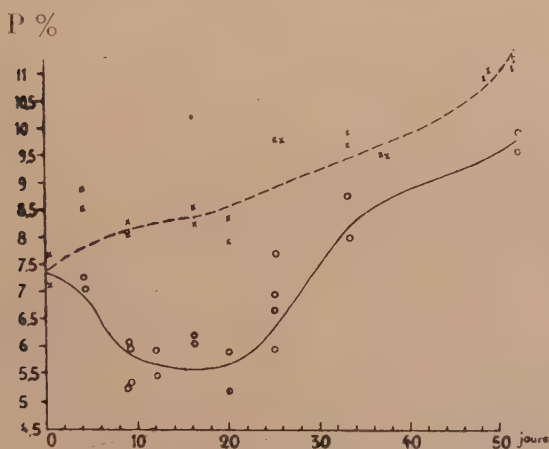


FIG. VII. — Variations de la teneur en phosphore (P % du poids sec).

Rats normaux témoins x ———

Rats au régime RL o ———

nourris au régime RL. Dans le tableau XV, on trouvera les taux de cet élément rapporté soit au poids frais,

soit au poids sec, des os de Rats normaux ou recevant le régime déséquilibré en sels.

Comme nous le montre ce tableau, la teneur en phosphore, en fonction du poids frais des os, diminue au cours de l'expérience, traduisant une déficience de la calcification. Ce phénomène est plus visible encore, si l'on rapporte les teneurs en phosphore au poids sec des os. Ces dernières valeurs nous ont permis de construire les courbes de la figure VII.

On constate un minimum vers le douzième jour de l'expérience. Le taux augmente à mesure que celle-ci se prolonge, mais à l'inverse de ce que nous avons vu pour l'azote, la courbe des Rats au régime standard et celle des Rats au régime RL ne se rejoignent pas.

5°) *Etude du rapport $\dot{P}/N$.*

Les variations du rapport Phosphore/Azote (P/N) de l'os figurent dans le tableau XVI et sur la courbe de la figure VIII.

Le rapport P/N est minimum, vers le douzième jour d'expérience. Il reste inférieur même aux valeurs minima que l'on observe au cours de la première ou de la deuxième semaine de l'existence (voir tableau X, p. 61).

Il est en tous cas toujours inférieur à celui des os de Rats normaux.

En résumé, l'ensemble des examens chimiques nous montre que des Rats en croissance, nourris avec un régime très alcalin et avitaminosé, présentent, dans la composition de leurs os, les variations suivantes :

1° La teneur en eau subit une augmentation dès le début de l'expérience pour atteindre son maximum vers le douzième jour. A partir de ce moment, elle tend à diminuer et reprend la valeur normale vers le 33^e jour.

TABEAU XVI

*Etude du rapport P/N des os de Rats
soumis au régime standard ou au régime RL.*

Rats N ^{os}	Animaux au régime standard			Durée de l'exp. (jours)	Rats N ^{os}	Animaux au régime R L		
	FD	FG	TG			FD	FG	TG
71 N	0,85	0,91	0,95	0				
75 N	1,05	1,10	1,09	4	R 80	0,83	0,83	1,06
52 N	1,11	1,17	1,39	9	R 77	0,53	0,55	0,79
—	—	—	—	12	R 81	0,66	0,77	0,94
53 N	1,17	1,08	1,34	16	R 76	0,64	0,53	0,74
54 N	1,45	1,05	1,48	20	R 79	0,65	0,68	0,82
55 N	1,29	—	1,45	25	R 72	0,60	0,58	0,89
48 N	1,47	1,49	1,68	33	R 73	0,82	0,77	0,81
51 N	2,11	2,03	2,16	53	R 85	1,04	1,05	1,22
					R 82	1,23	1,23	1,35
					R 84	1,67	1,71	1,84

2° La teneur en azote, rapportée au poids frais, est très voisine du taux obtenu chez les animaux normaux. Rapportée au poids sec, cette donnée suit les variations de la teneur en eau. Elle présente un minimum vers le 12^e jour de l'expérience et redevient normale au voisinage du 33^e jour.

3° La teneur en phosphore, rapportée au poids frais de l'os, est nettement inférieure à celle des animaux nor-

maux. Les écarts sont beaucoup plus sensibles si on la rapporte au poids sec. Elle présente un minimum vers le 12^e jour de l'expérience. A partir de ce moment, elle tend à augmenter, mais reste, même après 53 jours d'expérience, inférieure à la normale.

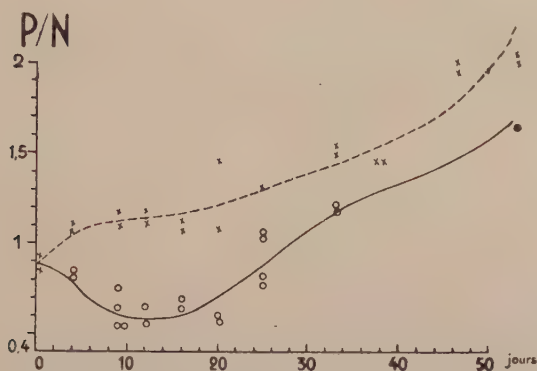


FIG. VII.11. — Variations du rapport Phosphore/Azote (P/N) aux diverses périodes de l'expérience.

Rats normaux temoins x -----

Rats au régime RL o -----

4° Le rapport P/N de l'os est diminué — le minimum se place vers le 12^e jour — il est encore très bas vers le 20^e jour, bien que les dépôts calcaires soient évidents, tant à l'examen anatomique, qu'à l'examen radiographique. Le P/N ne commence à augmenter qu'à partir du moment où la teneur en eau et en azote redeviennent normales. Les courbes deviennent alors parallèles, mais celle des Rats rachitiques reste décalée par rapport à celle des Rats normaux.

EXPÉRIENCES A L'AIDE DU RÉGIME RL ADDITIONNÉ D'UN EXCÈS DE PHOSPHORE

Nous rappelons que ce régime est avitaminosé, riche en calcium et en phosphore, et particulièrement déséquilibré en sels, par excès d'ions acides. Grâce à un tel déséquilibre, les lésions rachitiques provoquées sont plus graves, leur guérison spontanée empêchée, la déminéralisation ou la non minéralisation plus intense qu'avec le régime RL pur.

Marche des expériences.

L'expérience a été poursuivie sur le Rat R 88, et nourri en même temps que le Rat R 82, pendant 10 jours au régime RL pur ; à partir de ce moment, nous avons ajouté au régime du Rat R 84: 4 % de glycérophosphate de soude, tandis que le Rat R 82 a continué à recevoir le régime RL seul. Le Rat normal du chenil, 48 N, a servi comme témoin.

I. — CROISSANCE DES ANIMAUX.

Les 3 animaux pesaient 35-36 grammes au début de l'expérience ; 82 R et 48 N ont augmenté de poids normalement et ont atteint les poids respectifs de 92-95 gr. La courbe pondérale de R 83 a été également normale pendant les 10 premiers jours d'expérience ; mais, dès le changement de régime, la croissance s'est

ralentie, bien qu'elle ait persisté. A la fin de l'expérience, R 83 ne pesait que 80 grammes.

Le premier effet du régime acidogène a donc été un trouble de la croissance de l'animal.

II. — EXAMEN RADIOGRAPHIQUE ET ANATOMIQUE.

La radiographie du tibia droit disséqué ⁽¹⁾ du Rat R 88 montre un cartilage de conjugaison élargi. Ce cartilage, bien limité du côté de l'épiphyse, se joint à la diaphyse par une bordure osseuse irrégulière et floue.

A l'autopsie, l'os est friable, le cartilage est élargi, la couche ostéoïde est richement vascularisée.

Nous rappelons que le même examen du tibia de R 82 décèle une ligne d'ossification normale, une zone sous-jacente (ancien cartilage), en voie de calcification, donc un stade avancé de guérison spontanée.

III. — EXAMENS CHIMIQUES.

Nous avons également poursuivi cet examen, comparativement avec ceux faits sur les Rats R 82 et 48 N. L'ensemble des résultats se trouve consigné dans le tableau XVII.

1°) Poids des os.

Les os de R 88, dans l'ensemble, ont un poids inférieur de 10 % à ceux de 48 N et de 7 à 8 % à ceux de 82 R.

(1) Voir planche I, page

TABLEAU XVII

*Composition chimique des os de Rats soumis
soit au régime standard, soit au régime RL, soit au régime acidosique.*

	Poids des os (gr.)		Eau (%)	Azote		Phosphore		P/N
	frais	secs		(mgr.) (% p. fr.)	(% p. fr.) (% p. sec)	(mgr.) (% p. fr.)	(% p. fr.) (% p. sec)	
48 N	FD	0,330	0,148	11,16	3,38	16,47	4,82	1,47
	FG	0,321	0,161	10,74	3,34	16,00	4,98	1,43
	TG	0,234	0,134	8,14	3,42	13,68	5,70	1,68
82 R	FD	0,278	0,144	9,80	3,65	12,10	4,38	1,23
	FG	0,301	0,161	9,25	3,07	11,40	3,78	1,23
	TG	0,213	0,123	8,30	3,21	10,58	4,96	1,35
88 R	FD	0,272	0,120	9,10	3,34	9,30	3,40	1,01
	FG	0,285	0,124	9,80	3,44	10,37	3,64	1,06
	TG	0,201	0,100	6,80	3,38	8,60	4,27	1,26

2°) *Teneur en eau.*

Cette valeur, dans les os de R 88, dépasse celle des os de 48 N et même de R 82.

De même que dans l'expérience précédente, nous observons ici une relation entre la gravité des lésions et la teneur en eau des os — fait indiquant, semble-t-il, combien la partie protéique de l'os participe à l'organisation des lésions rachitiques.

3°) *Etude de l'azote.*

Les teneurs en azote, rapportées au poids frais des os, restent normales ; rapportées au poids sec, elles suivent les fluctuations de la teneur en eau, fait que nous avons également observé précédemment. Il implique sans doute une modification qualitative du support protéique de l'os, plutôt qu'une modification quantitative.

4°) *Etude du phosphore.*

Le taux du phosphore, dans les os du Rat R 88, est inférieur à celui des os du Rat R 82, nourri au régime RL, et, à plus forte raison, à celui des os du Rat normal 48 N. Ces écarts, sensibles dans les teneurs rapportées au poids frais des os, sont largement augmentés dans les teneurs rapportées au poids sec.

5°) *Etude du rapport P N.*

Nous constatons des fluctuations parallèles à celles observées pour le taux de phosphore. Il traduit, comme

dans l'expérience précédente, la gravité des lésions rachitiques.

En définitive, le régime acidogène, soit par suite de la réaction de ses cendres, soit parce qu'il renferme un excès de sels, s'oppose à la tendance à la guérison observée chez les Rats nourris pendant un certain temps au régime RL. On constate principalement :

1° Une modification probable des propriétés physico-chimiques du support protéique mise en évidence par une augmentation de la teneur en eau, le taux d'azote restant normal par rapport au poids frais.

2° Une modification quantitative des dépôts minéraux au niveau de l'os, dépôts dont le taux rapporté, tant au poids frais qu'au poids sec, est inférieur à la normale.

DISCUSSION DES RESULTATS

L'ensemble des résultats obtenus au cours d'expériences effectuées sur des animaux en croissance soumis à un régime déséquilibré en sels et avitaminosé, nous a permis d'étudier :

1° L'évolution de lésions typiques du rachitisme expérimental, et, dans certains cas, leur guérison spontanée.

2° Des modifications de la composition chimique des os.

Nous allons discuter, à ce double point de vue, les résultats que nous avons obtenus.

a) *Tant que les lésions rachitiques s'aggravent, il existe un parallélisme rigoureux entre les résultats de l'examen radiographique des os et ceux de leur étude chimique. Celle-ci permet donc, au même titre que le premier, de juger de l'existence de troubles de l'ossification dus au rachitisme.*

Mais, dès que la guérison spontanée est amorcée, ce parallélisme n'existe plus : alors que l'examen radiographique témoigne d'une amélioration progressive allant jusqu'à la guérison, l'étude du phosphore de l'os et du P/N montre, au contraire, que ces données restent toujours inférieures à la normale. Ce fait explique sans doute la fragilité bien connue des os rachitiques, après guérison des lésions. Il implique, en outre, soit que la calcification se fait aux dépens de carbonate de calcium (Shear et Kramer, 70), soit que l'excédent de phosphore que l'on observe chez l'animal normal ne participe pas au tissu osseux fondamental (Van Slyke et Peters, 41) ; mais à des réserves non organisées.

b) *Les modifications de la composition chimique des os (teneur en eau, en azote, en phosphore) montrent que les troubles provoqués par les lésions rachitiques intéressent à la fois la matrice protéique et les dépôts minéraux.*

Les modifications du rapport :

Matière organique / Matière minérale

observées par de nombreux auteurs, dans les os rachitiques qui, voisin de 70/30 à l'état normal, devient au cours des lésions 79,4/20,6 (Hugounenq), paraissent dues, non pas à une augmentation propre de la matrice protéique, mais à une modification de ses propriétés. Nos résultats, dans cet ordre de fait, se superposent à ceux de l'observation histologique.

On sait, en effet (Policard, Péhu et Boucommont, 71), que dans l'os rachitique, entre le cartilage hyalin et l'os spongieux métaphysaire, l'un et l'autre presque normaux, s'étend une région pathologique formée par deux édifications tissulaires spéciales : la substance chondroïde et la substance ostéoïde. La première correspond au cartilage de l'os normal, la deuxième à la zone d'ossification primaire profondément modifiée. Or, la substance chondroïde présente, à l'examen histologique et physico-chimique, certains caractères qui font penser à un œdème du cartilage.

Cet état œdémateux semble constituer la première étape d'une transformation régressive du cartilage vers le tissu conjonctif ou fibreux. Les cellules résistent à la dégénérescence physiologique. La substance fondamentale est elle-même, tantôt œdémateuse, tantôt fibreuse.

La substance ostéoïde est caractérisée par la formation, dans le tissu chondroïde, d'os conjonctif ou fibreux, assez analogue à du tissu de cal.

L'ossification se fait sous forme de travées ostéoïdes non calcifiées, non orientées par une matrice antérieure; elles se disposent en milieu conjonctif homogène. La

texture spongieuse spéciale de l'os rachitique est déterminée :

1° Par l'absence d'une matrice, soutien de l'ossification ;

2° Par l'absence de substance préosseuse et la persistance d'un tissu mou semblable à un tissu conjonctif ordinaire. L'os ainsi formé est toujours imparfait.

Le deuxième ordre de modifications observées dans le P/N intéresse, avons-nous dit, les dépôts salins, car l'ossification de l'os rachitique ne diffère pas seulement de l'os normal par sa texture, elle s'en distingue, en outre, par une diminution du taux des sels minéraux. Quoique imparfaite, la constitution histologique de l'os est prête, mais il manque un élément essentiel : les dépôts de phosphates calciques.

Ici, nos données concordent avec celles que de nombreux auteurs ont faites, soit en clinique, soit au laboratoire, et qu'il serait trop long d'énumérer. Nous mentionnerons seulement les travaux de Brubacher, en 1890, sur le squelette d'enfants rachitiques, ceux de Gassmann, en 1910, et les très nombreux résultats obtenus à la suite d'expériences sur les animaux, par Korenchevsky, Karelitz et Shohl, Mouriquand et Leulier, Shermann et Pappenheimer, etc...

c) *En observant simultanément les courbes de variations de l'azote, et celles du phosphore (f. IV et V), on constate que la guérison spontanée du rachitisme, tout comme l'ossification normale, se fait en deux temps : l'organisation de la partie protéique, et celle des dépôts salins ; car le taux de l'azote protéique de l'os rede-*

vient normal bien avant que la recalification ne soit complète.

L'ensemble de ces considérations nous permet de conclure que les régimes déséquilibrés en sels et avitaminés déterminent chez des Rats en croissance des troubles du squelette qui, étant données les modifications observées dans la partie protéique de l'os, semblent intéresser le tissu osseux fondamental. Si le déséquilibre salin du régime n'est pas excessif (cas du régime RL), la guérison spontanée peut s'amorcer et, dans ce cas, le tissu osseux fondamental se réorganise, mais les réserves minérales ne pouvant se former, le squelette s'ossifie, en fixant le phosphore dans la mesure où le régime apporte cet élément.

Si le déséquilibre salin du régime est très accentué (cas du régime RL, additionné de glycéro-phosphate), l'animal ne fixe pas de phosphore, quelle que soit la quantité de cet élément ingéré, et les lésions rachitiques persistent en même temps que l'azote et le phosphore, rapportés au poids sec de l'os, se maintiennent à un taux anormalement bas.

III. Etude de l'azote, du phosphore et du P/N de l'os chez le Rat préadulte ou adulte soumis à un régime déséquilibré en sels et avitaminé.

Nous avons vu, au cours du paragraphe précédent, que l'ingestion d'un régime fortement déséquilibré en sels et avitaminé est susceptible de provoquer des dystrophies osseuses chez les animaux en croissance. Nous allons examiner ici quelle est l'influence d'un tel régime sur des Rats préadultes ou adultes (donc en l'absence de toute croissance).

Chez les premiers, la taille définitive du squelette est atteinte et les dépôts salins sont en voie d'organisation. Chez les seconds, tissu osseux fondamental et réserves sont constitués. Aussi, avons-nous pensé qu'au cours de ces deux étapes distinctes de leur vie, les animaux réagiraient de façon différente. Chez les animaux préadultes, le déséquilibre salin du régime doit tendre à détruire ce dont il empêche la formation chez l'animal jeune. Chez l'animal adulte, au contraire, il doit tout d'abord épuiser les réserves minérales, avant de toucher le tissu osseux proprement dit ;

l'évolution des lésions se fera donc ici en deux temps. Mais, chez les uns et chez les autres, le résultat final doit être le même : l'expérience doit aboutir, dans les deux cas à une atteinte d'un *squelette déjà formé* et se différencie par là nettement de celle poursuivie sur l'animal jeune. Chez ceux-ci, on reproduit plus particulièrement des lésions expérimentales analogues au rachitisme vrai ; tandis que chez l'animal adulte ou préadulte, l'on se rapproche davantage, semble-t-il, de la pathogénie de l'ostéoporose.

MARCHE DES EXPÉRIENCES

Nous basant sur le fait que le même déséquilibre salin peut être provoqué dans un régime par le calcium ou le strontium, nous avons poursuivi nos expériences de la façon suivante :

2 Rats	ont été nourris	au régime	85 + 2 % de CO^2Sr .
1 Rat	—	—	85 + 2 % de CO^2Ca
1 Rat	—	—	85 seul

Ces animaux ont reçu de la nourriture *ad libitum* et de l'eau distillée.

Nos différents examens ont porté comme précédemment :

- 1° sur la courbe de poids des animaux,
- 2° sur les lésions anatomo-macroscopiques,
- 3° enfin, sur les variations de la composition chimique des os.

I. — COURBE DE POIDS DES ANIMAUX.

Les animaux ont été pesés régulièrement tous les deux jours. Deux d'entre eux : R 27 et R 28 ont été sacrifiés au bout de 8 jours. R 23 et R 26 ont été laissés jusqu'à leur mort survenue respectivement au bout de 29 et 13 jours.

Tandis que la courbe pondérale des Rats en croissance nourris au régime RL a progressé normalement, du moins pendant les 30 premiers jours d'expérience, les Rats adultes ont maigri dès la mise en expérience et l'amaigrissement s'est poursuivi jusqu'à la fin de celle-ci.

Les données rassemblées dans le tableau XVIII représentent les variations du poids des animaux au cours de l'expérience.

TABLEAU XVIII

<i>Rats Nos</i>	<i>Régime</i>	<i>Durée d'expér. (jours)</i>	<i>Poids initial (gr.)</i>	<i>Poids final (gr.)</i>	<i>Perte de poids (%)</i>
R 27	85 + Sr	8	121	85	30
R 23	85 + Sr	29	109	62	42
R 26	85 + Ca	13	147	84	42
R 28	85	8	107	79	32

Les pertes de poids sont influencées à la fois par la durée de l'expérience et par le poids initial de l'animal. Nous aurons l'occasion de revenir sur ce fait.

II. — EXAMEN ANATOMO-MACROSCOPIQUE.

A l'autopsie, les animaux présentent des lésions osseuses visibles au niveau de l'articulation tibio-fémorale et dont voici l'essentiel :

R 23 — Os facilement entaillé par le bistouri. Une coupe macroscopique de l'épiphyse supérieure du tibia montre une zone claire assez large située au niveau de l'ancien cartilage conjugal, tranchant sur la zone ostéide à peu près normale.

R 26 — présente encore cette même zone claire avec prolifération de la couche ostéoïde et plongée dans la diaphyse.

R 28 et R 27 — Os normaux, mais relativement mous.

Donc, les Rats R 23 et 26 présentent des lésions osseuses très nettes — R 28 et 27 n'offrent, au contraire, à la coupe aucune anomalie.

III. — EXAMENS CHIMIQUES.

Nos examens ont porté :

Sur les Rats carencés R 27, R 28, R 23, R 26 ;

Sur les Rats normaux 76 N, 35 N, 45 N, 22 N,

qui pesaient respectivement le même poids que les animaux précédents, au moment de la mise en expérience.

Sur les Rats normaux 51 N, 77 N, 60 N et 65 N prélevés dans le chenil au moment de la mort de chacun des sujets carencés et ayant respectivement le même poids initial que les précédents.

Nous avons établi les données suivantes :

- 1° — Poids des os,
- 2° — Teneur en eau,
- 3° — Etude de l'azote,,
- 4° — Etude du phosphore,
- 5° — Etude du rapport P/N.

1°) *Poids des os.*

Nous avons réuni dans le tableau XIX l'ensemble des données relatives au poids des os frais et secs.

L'examen de ce tableau nous permet de faire les remarques suivantes :

R 27 et R 28 ont continué, malgré le régime, à organiser leur tissu osseux. Le poids frais ou sec de leurs os est voisin de celui des animaux du chenil, après 8 jours d'expérience.

R 23 et R 26, par contre, non seulement n'ont pu organiser leur tissu osseux, mais, d'ores et déjà, nous observons une rétrogradation de leur squelette. Ce fait, sensible à l'examen du poids frais des os, s'accroît si l'on détermine leur poids sec.

Il est surtout net pour le Rat R 26.

TABEAU XIX

*Etude comparative du poids et de la teneur en eau des os d'animaux
nourris soit au régime standard, soit au régime 85+Sr.*

Rats N ^{os}	Poids frais des os (gr.)			Poids sec des os (gr.)			Eau (%)		
	FD	FG	TG	FD	FG	TG	FD	FG	TG
{ 76 N *	0,363	0,368	0,268	0,204	0,204	0,162	44	44	39
{ R 27	0,465	0,431	0,324	"	"	"	"	"	"
{ 51 N **	0,458	0,421	0,305	0,249	0,232	0,186	45	45	39
{ 35 N *	0,345	0,337	0,276	0,215	0,158	0,139	55	53	30
{ R 28	0,431	0,411	0,330	0,201	0,192	0,159	55	53	52
{ 77 N **	0,430	0,420	0,310	0,200	0,198	0,172	53	52	44
{ 45 N *	0,377	0,425	0,259	0,154	0,177	0,159	56	58	51
{ R 23	0,348	0,362	0,262	0,172	0,182	0,151	50	50	42
{ 60 N **	0,547	0,532	0,401	0,325	0,320	0,266	40	40	36
{ 22 N *	0,468	0,484	0,370	0,286	0,286	0,230	39	40	35
{ R 26	0,381	0,399	0,310	0,188	0,198	0,168	50	50	45
{ 65 N **	0,673	0,674	0,469	0,412	0,408	0,312	39	39	38

(*) Animaux normaux pesant le même poids respectivement que R 27, R 28, R 23, R 26, pris au début de l'expérience.

(**) Animaux normaux pesant le même poids initial respectivement que R 27, R 28, R 23, R 26, pris à la fin de l'expérience.

2°) *Teneur en eau.*

Nous avons réuni dans le tableau XIX l'ensemble des données relatives à la teneur en eau des os de Rats.

La teneur en eau des os d'animaux carencés augmente proportionnellement à la durée de l'expérience et à la taille initiale de l'animal. Les perturbations provoquées par le régime déséquilibré en sels sont plus graves chez le Rat R 26 (adulte), que chez le Rat R 23 (pré-adulte), bien que celui-ci ait eu une durée d'expérience beaucoup plus longue que celui-là.

On retrouve, ici, la relation observée précédemment entre la gravité des lésions et la teneur en eau des os.

3°) *Etude de l'azote.*

Nous avons réuni dans les tableaux XX les données relatives à cet élément.

Dans tous les cas, la teneur en azote par rapport au poids frais est supérieure à celle d'animaux normaux, pris au début ou en fin d'expérience.

Les écarts sont d'autant plus marqués que l'expérience a été plus longue (R 23) ou que la taille initiale de l'animal était plus élevée (R 26) et surtout sensibles quand on rapporte l'azote au poids sec des os.

4°) *Etude du phosphore.*

En examinant le tableau XXI dans lequel sont consignées les différentes valeurs relatives à la teneur en phosphore des os, on constate que l'absorption du régime déséquilibré en sels provoque une déminéralisa-

TABLEAU XX

*Etude comparative de l'azote des os de Rats nourris,
soit au régime standard, soit au régime 85 + Sr.*

Rats Nos	Azote (mgr.)			Azote (%) du poids frais			Azote (%) du poids sec		
	FD	FG	TG	FG	FG	TG	FD	FG	TG
{ 76 N *	11,20	10,82	5,04	3,08	2,66	3,14	5,48	5,29	5,23
{ R 27	17,20	17,71	13,72	3,70	4,10	4,21	"	"	"
{ 51 N **	14,52	13,26	9,82	3,17	3,14	3,22	5,83	5,71	5,24
{ 35 N *	11,56	11,76	9,20	3,55	3,40	3,43	7,50	7,44	6,91
{ R 28	13,85	14,55	12,30	4,00	3,96	4,03	8,48	8,58	8,20
{ 77 N **	11,21	11,30	9,71	2,60	2,20	3,13	5,60	5,71	5,73
{ 45 N *	13,26	14,22	10,90	3,51	3,34	3,30	8,03	8,05	6,85
{ R 23	17,30	16,30	13,30	3,64	3,50	3,73	7,37	6,98	6,48
{ 60 N **	16,60	16,72	12,20	3,03	2,95	3,04	5,10	4,91	4,60
{ 22 N *	15,42	15,02	11,22	3,29	3,10	3,16	5,39	5,25	4,88
{ R 26	12,70	9,40	9,60	2,09	2,90	3,10	7,34	7,33	7,04
{ 65 N **	19,95	20,00	15,50	3,63	3,64	3,97	4,60	4,80	4,90

(*) Voir note tableau XIX.

(**) — — — —

TABLEAU XXI
*Etude comparative du phosphore des os chez les animaux nourris
soit au régime standard, soit au régime 85+Sr.*

Rats Nos	Phosphore (mgr.)			Phosphore (%) du poids frais			Phosphore (5 %) du poids sec		
	FD	FG	TG	FD	FG	TG	FD	FG	TD
76 N *	23,54	29,89	29,51	6,74	6,00	6,89	11,47	10,24	11,28
R 27	31,50	30,35	23,45	6,74	7,45	7,28	"	"	"
51 N **	28,18	26,12	21,06	6,13	6,20	6,93	11,31	11,26	11,27
35 N *	13,54	13,40	12,99	3,92	3,97	4,39	8,74	8,48	9,76
R 28	18,75	17,60	15,70	4,35	4,28	4,10	9,30	9,15	10,00
77 N **	20,40	21,40	18,71	4,80	5,09	6,03	10,20	10,90	11,00
45 N *	13,94	14,22	12,80	3,69	3,34	3,88	8,45	8,03	8,04
R 23	15,80	13,00	13,30	4,53	4,90	5,11	9,10	10,00	8,80
60 N **	39,80	37,80	31,70	7,28	7,10	7,58	12,21	11,81	12,91
22 N *	32,50	30,50	24,48	6,97	6,30	6,89	11,39	10,70	10,64
R 26	18,85	19,35	15,15	4,94	4,95	5,53	9,30	9,15	10,00
65 N **	49,20	49,20	38,40	7,31	7,32	7,80	11,94	12,10	12,30

(*) Voir note tableau XIX.

(**) — — — —

tion chez tous les animaux. Les écarts entre le taux de phosphore des os de Rats recevant ce régime et celui des os de Rats normaux sont sensibles, que ce taux soit exprimé en fonction du poids frais ou du poids sec des os.

Les valeurs obtenues dans les os de R 28, comprises entre celles de 35 N et de 77 N, montrent que l'animal pendant les 8 jours de régime, n'a fixé que partiellement, au niveau de ces os, le phosphore ingéré.

TABLEAU XXII

*Etude comparative du rapport P/N
des os de Rats nourris, soit au régime standard,
soit au régime 85+Sr.*

<i>Rats</i> <i>N°</i>	<i>P/N</i>		
	FD	FG	TG
{ 76 N *	1,93	2,08	2,19
{ R 27	1,81	1,70	1,71
{ 51 N **	1,93	1,97	2,14
{ 35 N *	1,17	1,13	1,41
{ R 28	1,08	1,07	1,21
{ 77 N **	1,83	1,90	1,97
{ 45 N *	1,05	1,01	1,16
{ R 23	1,24	1,38	1,38
{ 60 N **	2,39	2,40	2,40
{ 22 N *	2,11	2,03	2,17
{ R 26	1,36	1,33	1,23
{ 65 N **	2,46	2,47	2,47

(*) Voir note tableau XIX.

(**) — — — —

Il en est de même pour R 23, avec des écarts augmentés par suite de la durée de l'expérience.

Quant au Rat R 26, les taux de phosphore sont inférieurs à la fois, à ceux des os de 65 N et à ceux des os de 22 N.

De tels résultats impliquent le fait que, non seulement l'animal n'a pas fixé de phosphore au cours de l'expérience, mais qu'en outre il a perdu des réserves minérales. Nous verrons ces faits se confirmer dans la troisième partie de ce travail.

5°) *Etude du rapport P/N des os.*

L'ensemble des données relatives à ce rapport sont consignées dans le tableau XXII.

L'examen de ce tableau montre que le rapport P/N des os d'animaux préadultes ou adultes soumis au régime déséquilibré en sels est inférieur à celui d'animaux normaux de même poids initial. La déminéralisation croît avec le poids initial des animaux et avec la durée de l'expérience.

L'ensemble des résultats apportés par l'étude des variations de la composition chimique des os peut se résumer comme il suit :

Lorsque des Rats adultes ou préadultes sont soumis à un régime déséquilibré en sels et avitaminé, on observe :

1° Les modifications de la matrice organique des os se traduisant par une augmentation de leur teneur en eau et de leur teneur en azote. Cette augmentation est proportionnelle à la gravité des lésions.

2° Une diminution des dépôts salins dont le taux redevient égal chez tous les animaux, à celui de Rats préadultes. La perte phosphorée se trouve, de ce fait, d'autant plus grande, que l'animal est plus âgé ou que la durée de l'expérience est plus longue.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

a) *Tout régime déséquilibré en sels et avitaminé est susceptible de provoquer une déminéralisation au niveau du squelette des animaux préadultes ou adultes.*

Nos résultats infirment les conclusions de Mouriquand, Leulier et Weill (72), énoncées dans leur communication à l'Académie des Sciences sur « l'âge et les antifixateurs de calcium ». Ces auteurs, à la suite de différentes expériences, poursuivies sur des animaux préadultes ou adultes nourris, soit au régime 85, soit au régime 85 + Sr, concluent que « les Rats adultes ont acquis la maîtrise de leur calcium ». Nous avons vu, au cours de nos expériences, qu'il n'en était rien.

b) *La déminéralisation est d'autant plus intense que les lésions sont plus graves. Cependant, ces deux processus peuvent être indépendants l'un de l'autre.*

En effet, on peut observer une déminéralisation, en l'absence de toute lésion (R 27 et R 28). Ces faits concordent avec de nombreuses observations faites chaque jour en clinique. En particulier, Mouriquand et Leulier (45) notent souvent un « état de précarence »,

au cours duquel, bien avant l'apparition de signes cliniques des lésions, les pertes calciques et phosphorées augmentent.

c) *La déminéralisation est d'autant plus intense que le poids initial de l'animal est plus élevé. Il nous est permis de supposer que les pertes de phosphore se font surtout aux dépens des réserves. Les taux de phosphore des os, chez les animaux carencés, sont relativement voisins entre eux et voisins également de ceux que l'on obtient chez les animaux normaux pesant de 95 à 100 grammes. Tout se passe comme si le phosphore osseux fondamental ne participait que très peu à cette déminéralisation, qui se ferait surtout aux dépens des réserves minérales. Le phosphore des réserves serait facilement mobilisable au cours des déséquilibres salins ; le phosphore fondamental ne paraissant subir que des fluctuations de moindre amplitude.*

IV. Etude du phosphore, de l'azote, du rapport P/N de l'os chez le Rat recevant un régime déséquilibré en sels et de la vitamine D.

Nous avons exposé au début de cette deuxième partie le rôle du déséquilibre salin du régime et celui de la vitamine D dans l'évolution des lésions rachitiques.

Nous avons vu, à la suite d'expériences exposées dans le paragraphe précédent, que le rapport phosphore/azote des os subissait des variations en relation avec la gravité des lésions et l'âge des animaux. Ce fait implique une modification à la fois du tissu osseux fondamental et des réserves minérales.

Nous nous proposons, au cours de ce chapitre, d'étudier l'effet simultané d'un régime déséquilibré en sels et contenant de la vitamine D. Nous déterminerons cette action en examinant les os au point de vue radiographique et au point de vue chimique.

Nos expériences ont porté :

- 1° sur les animaux en croissance ;
- 2° sur les animaux préadultes et adultes.

A. — ETUDE SUR LES RATS EN CROISSANCE

Ces expériences ont été mises en train parallèlement aux expériences relatées dans le paragraphe II de la II^e partie de ce travail. Elles sont donc comparables, d'une part aux animaux normaux, d'autre part, aux animaux qui ont continué à être nourris au régime Randoïn Lecoq, et qui n'ont pas reçu de vitamine D. Nous avons, en outre, étudié le squelette d'un animal qui a été nourri au même régime, dans lequel le mélange salin spécial et le lactate de chaux ont été remplacés par le mélange salin d'Osborne et qui se trouve, de ce fait, équilibré sous tous les rapports.

MARCHE DES EXPÉRIENCES

Pendant les 9 premiers jours, les animaux pesant au début entre 36 et 38 grammes, ont été nourris au régime Randoïn Lecoq, comme ceux dont les expériences ont été rapportées au paragraphe II.

A partir du 9^e jour, nous étant assurés par l'examen du Rat R 81 que le rachitisme était en pleine évolution, nous avons soumis : d'une part, le Rat R 83 au régime équilibré ; d'autre part, les Rats R 87 et R 89 au même régime RL, additionné, chaque jour, de trois gouttes d'huile de foie de morue standard.

I. — EXAMENS RADIOGRAPHIQUES ET HISTO-MACROSCOPIQUES

L'ensemble des différents examens se trouve consigné dans la planche II.

R 81. — 9 jours au régime RL. Rachitisme en pleine évolution — large épaissement du cartilage — ligne d'ossification régulière.

A l'autopsie : tuméfaction et ramollissement des épiphyses, zone spongieuse fortement vascularisée, cartilage très élargi.

R 83. — 9 jours, régime RL. 18 jours, régime synthétique équilibré — cartilage de conjugaison encore large, mais ligne de démarcation avec la diaphyse convexe et régulière.

A l'autopsie : os assez dur à la coupe — zone ostéoïde peu nette — cartilage de conjugaison légèrement élargi.

R 87. — 9 jours, régime RL + 8 jours HFM. Aspect normal.

R 89. — 9 jours, régime RL + 14 jours HFM. Aspect normal, os dur à la coupe.

En résumé, la vitamine D accélère la guérison du rachitisme expérimental.

II. — EXAMENS CHIMIQUES.

Le nombre des données étant relativement restreint, nous ne nous étendrons pas sur les différents résultats qui sont réunis dans les tableaux XXII bis, XXIII, XXIV, XXV.

Afin de faciliter la discussion des résultats, nous allons, ici encore, les comparer avec ceux établis sur des animaux témoins, de même poids initial, recevant le régime RL, sans huile de foie de morue ou le régime standard.

D'une façon générale, les différentes données, poids des os, teneur en eau, en azote et en phosphore, sont normales pour les os de R 83 et R 87. Les os de R 87 et surtout ceux de R 89 présentent, pour ces différentes données des valeurs obtenues chez des animaux pesant de 85 à 90 grammes. Au moment où il a été sacrifié, cet animal ne pesait que 76 gr.

L'examen des variations du rapport P/N montre que cette valeur ne tend à devenir normale que chez R 83, recevant un régime rachitigène équilibré. Les animaux recevant de l'huile de foie de morue ont un rapport P/N nettement supérieur à celui des animaux normaux recevant une nourriture standard.

TABEAU XXII BIS

Poids frais et sec et teneur en eau des os de Rats recevant soit le régime standard, soit le régime RL ou ce même régime complété.

<i>Durée de l'exp. (jours)</i>	<i>Rats Nos</i>	<i>Poids frais (gr.)</i>			<i>Poids sec (gr.)</i>			<i>Eau (%)</i>		
		FD	FG	TG	FD	FG	TG	FD	FG	TG
29	48 N (régime standard)	0,330	0,321	0,238	0,148	0,161	0,146	49	49	42
	R 82 (régime RL)	0,278	0,301	0,213	0,144	0,161	0,123	52	53	42
	R 83 (régime RL complété)*	0,289	0,301	0,194	0,144	0,151	0,106	50	50	45
19	53 N (régime standard)	0,232	0,243	0,172	0,098	0,093	0,073	60	60	54
	R 79 (régime RL)	0,205	0,204	0,176	0,065	0,068	0,069	68	66	63
	R 89 (rég. RL + HFM)**	0,253	0,289	0,187	0,102	0,113	0,078	60	60	58
23	55 N (régime standard)	0,265	0,303	0,190	0,169	0,114	0,098	60	62	51
	R 73 (régime RL)	0,280	0,272	0,203	0,109	0,097	0,079	64	61	61
	R 87 (rég. RL + HFM)**	0,267	0,261	0,204	0,121	0,130	0,112	54	50	45

(*) Régime complété de sels pendant les 20 derniers jours de l'expérience.

(**) H.F.M. administré pendant les 10 derniers jours de l'expérience.

(***) H.F.M. administré pendant les 14 derniers jours de l'expérience.

TABEAU XXIII

Azote des os de Rats recevant soit le régime standard,
soit le régime RL ou ce même régime complété.

Durée de l'exp. (jours)	Rats N ^{os}	Azote (mgr.)			Azote (%) du poids frais			Azote (%) du poids sec		
		FD	FG	TG	FD	FG	TG	FD	FG	TG
29	48 N (régime standard)	11,16	10,74	8,14	3,38	3,34	3,46	6,60	6,66	6,07
	R 82 (régime RL)	9,80	9,25	8,30	3,65	3,07	3,52	6,60	7,31	6,77
	R 83 (régime RL complété)*	10,20	10,40	6,20	3,53	4,81	3,19	7,08	6,96	5,83
	53 N (régime standard)	»	7,08	7,10	»	2,91	4,12	»	7,61	8,98
19	R 79 (régime RL)	6,22	6,19	4,91	3,10	3,09	2,96	9,74	9,10	7,96
	R 89 (rég. RL + HFM)**	7,80	8,60	6,40	3,08	2,98	3,42	7,74	7,60	8,20
	55 N (régime standard)	8,26	6,56	5,84	3,12	2,11	2,10	7,46	6,68	6,78
23	R 73 (régime RL)	8,80	7,93	6,83	3,14	2,91	3,41	8,17	8,07	8,77
	R 87 (rég. RL + HFM)***	8,70	8,50	6,80	3,25	3,22	3,38	7,20	6,54	6,07

(*) (**) et (***) Voir notes tableau XXII.

TABLEAU XXIV

*Phosphore des os de Rats recevant soit le régime standard,
soit le régime RL ou ce même régime complété.*

<i>Durée de l'exp. (jours)</i>	<i>Rats N°s</i>	<i>Phosphore (mgr.)</i>			<i>Phosphore (%) du poids frais</i>			<i>Phosphore (%) du poids sec</i>		
		FD	FG	TG	FD	FG	TG	FD	FG	TG
29	48 N (régime standard)	16,47	16,00	13,68	4,83	4,98	5,74	9,75	9,94	10,51
	R 82 (régime RL)	12,10	11,40	10,58	4,38	3,78	4,96	9,02	8,14	8,60
	R 83 (régime RL complété)	13,34	13,48	10,11	4,62	4,81	5,21	9,26	8,92	9,63
	53 N (régime standard)	7,47	7,66	7,10	3,21	3,15	4,10	8,19	8,23	8,98
19	R 79 (régime RL)	4,07	4,27	4,04	1,98	2,09	2,29	6,27	6,36	6,27
	R 89 (rég. RL + IIFM) **	9,97	10,25	9,50	3,94	3,94	5,08	9,77	9,07	12,19
	55 N (régime standard)	10,67	»	8,50	4,02	»	4,47	9,89	»	9,88
23	R 73 (régime RL)	7,24	6,10	5,60	2,58	2,24	2,76	6,64	6,18	7,10
	R 87 (rég. RL + IIFM) ***	12,81	13,75	11,83	4,79	5,07	5,79	10,75	10,57	10,56

(*) (**) et (***) Voir notes tableau XXII.

TABEAU XXV

*Etude comparée du rapport P/N des os de Rats
recevant soit un régime standard,
soit le régime RL seul ou complété.*

Durée de l'expér. (jours)	Rats N ^{os}	Rapport P/N		
		FD	FG	TG
29	48 N			
	régime standard	1,47	1,49	1,73
	R 82			
	régime RL	1,23	1,23	1,35
19	R 83			
	régime RL complété*	1,30	1,29	1,63
	53 N			
	régime standard	1,17	1,08	1,20
19	R 79			
	régime RL	0,65	0,68	0,82
	R 89			
	rég. RL + HFM **	1,28	1,19	1,48
23	55 N			
	régime standard	1,29	»	1,44
	R 73			
	régime RL	0,82	0,77	0,81
23	R 87			
	rég. RL + HFM ***	1,47	1,65	1,73

(*) (**) et (***) Voir notes tableau XXII.

DISCUSSION DES RESULTATS

Lorsque nous avons étudié l'évolution du rachitisme chez les animaux en croissance, nous avons constaté que la gravité des lésions était fonction de deux facteurs, à savoir :

D'un facteur intéressant le support protéique de l'os, lequel subissait, au cours du rachitisme des modifications se traduisant par une augmentation de la teneur en eau ;

D'un facteur intéressant les dépôts minéraux, dont le phosphore subissait une diminution aussi bien en pour cent du poids frais, que du poids sec.

La guérison spontanée de ces lésions se manifeste par :

un retour à la normale de la teneur en eau des os,
une teneur en phosphore inférieure à celle-ci. Ce qui ne nous a pas étonné, étant donné la déficience en phosphore du régime.

La guérison provoquée par un régime synthétique équilibré, mais avitaminé, se manifeste par :

un retour à la normale de la teneur en eau et en azote,
un essai de rétablissement de la teneur en phosphore et du P/N.

Enfin, la guérison provoquée par la vitamine D est consécutive :

à une teneur en eau normale,

à un taux de phosphore supérieur à la normale.

Dans ces conditions, quel est le rôle précis de la vitamine D chez les animaux rachitiques en croissance ?

Si nous entendons par guérison du rachitisme, la réorganisation du tissu osseux fondamental, entraînant en même temps que la calcification du cartilage, une teneur normale en eau, nous pouvons dire que :

ou bien que la vitamine D n'est pas indispensable à cette réorganisation,

ou bien que les animaux ont la faculté, n'ayant pas été privés de lumière, de pourvoir à leurs besoins minima de vitamine D. On sait le rôle prêté au foie, par Maignon (73) et Weinstock (74); au tissu réticulo-endothélial, surtout celui de la rate, par Remond, Soula et Cauquil (75) dans la production endogène de vitamine D. Ces différentes théories n'ont pas, à l'heure actuelle, remporté tous les suffrages ; elles fourniraient une explication aux faits que nous avons observés.

Nous déterminerons, par la suite, d'une façon plus précise, le rôle de la vitamine D dans l'édification du tissu osseux. Dès à présent, nous observons que l'adjonction d'huile de foie de morue au régime, accélère la guérison, et favorise la calcification. Dans ce sens, nos résultats confirment ceux obtenus par de nombreux auteurs.

Mouriquand et Leulier, en France (48), Mac Cann et Barnett (76), Shohl et ses Collaborateurs (74), avant eux Goidblatt (78) Hess (79), Steenbock et ses élèves (80-81), etc... en Amérique ; Schultzer (82) en Allemagne ; Bills, Wireck et Long (83) en Angleterre, ont tous montré l'augmentation des dépôts minéraux au niveau des os d'animaux rachitiques sous l'influence de la vitamine D. Cet accroissement des dépôts paraît même s'effectuer, au point de vue expérimental, du moins d'une façon systématique, si bien que certains auteurs anglais (Hume, Pickersgill et Montgomery (84) Bourdillon et Bruce (85) remarquant la relation constante qui existe entre les doses thérapeutiques de vitamine D et l'augmentation du pour cent des cendres d'os ont pu construire une courbe. Ils ont même observé, en mettant en abscisses le logarithme de la concentration en ergostérol et en ordonnée le pour cent des cendres, qu'on obtient une droite « ce qui montre que lorsque la quantité d'ergostérol irradié varie en progression géométrique, celle du pour cent des cendres varie en progression arithmétique ». Nous ne savons pas si nous devons retenir des faits d'ordre aussi mathématique ; la biologie n'exige pas dans ces raisonnements des méthodes aussi exactes et ne voyons dans cette expérience que l'illustration élégante de toutes les observations faites dans le domaine expérimental et dans le domaine clinique, de la propriété récalcifiante de la vitamine D.

Mais, qui dit calcification, ne dit pas ossification. Le premier terme s'appliquant plus particulièrement à l'organisation des dépôts salins ; le second, à l'édification du tissu osseux fondamental.

Les quelques résultats que nous avons obtenus chez les animaux en croissance, en concordance avec ceux que nous avons obtenus chez les animaux adultes et que nous exposerons dans quelques instants, nous montrent que la guérison provoquée par la vitamine D ne se différencie pas seulement de la guérison spontanée et même de celle provoquée par l'adjonction de phosphates, par sa rapidité, mais par le fait que, dans ce cas, les sels phospho-calciques se précipitent au niveau de l'os, non pas à un taux identique au taux normal, mais supérieur à celui-ci.

Dès lors, par un processus, encore mal connu, le squelette joue d'une façon précoce, presque anormale peut-on dire, le rôle de « réservoir minéral » que nous lui avons vu jouer chez les animaux adultes.

La vitamine D n'aurait qu'une action indirecte sur le tissu osseux fondamental. Elle peut favoriser la guérison des lésions rachitiques en déterminant la formation de dépôts minéraux, dont nous connaissons l'action dans la régulation de l'équilibre acide base : elle agit ainsi sur le métabolisme salin, la concentration ionique des humeurs et, par là, indirectement, sur l'acidité de celles-ci.

B. — ETUDE SUR LES RATS ADULTES OU PREADULTES

Tandis que, dans l'expérience précédente, l'huile de foie de morue a agi comme curatif, c'est à titre préventif que nous avons administré la vitamine D aux animaux sur lesquels nous avons poursuivi nos présentes recherches.

MARCHE DES EXPÉRIENCES

Nos Rats ont été nourris au régime 85 additionné de 2 % de carbonate de strontium, régime déjà utilisé dans les expériences relatées dans le chapitre III ; mais ils ont reçu, dès la mise en expérience, 3 gouttes d'huile de foie de morue par jour.

Nous continuerons à examiner successivement les réactions pondérales des animaux, la nature des lésions au point de vue radiographique et la composition chimique des os.

I. — COURBE DE POIDS.

Les animaux ont été choisis, tantôt à l'âge adulte, tantôt à l'âge préadulte. La seule différence qui se soit manifestée entre les animaux nourris au strontium ayant reçu de la vitamine D, et ceux qui n'en ont pas reçu, est une résistance au régime déséquilibré en sels

que l'on n'observe pas chez les animaux ne recevant pas de facteur anti-rachitique.

L'expérience, dans le cas d'animaux recevant de l'huile de foie de morue, a pu être prolongée en effet. d'une moyenne de 60 jours.

Nous avons consigné dans le tableau XXVI la perte de poids des différents animaux et ses rapports avec la taille initiale de l'animal et la durée de l'expérience.

En observant la dernière colonne de ce tableau, on constate une gradation évidente parallèle à celle de la deuxième colonne ; elle traduit le fait que la perte de poids s'est effectuée surtout aux dépens des réserves dont le taux est en général, d'autant plus élevé que l'animal est plus âgé, ou tout au moins que son poids initial est plus fort.

TABLEAU XXVI

*Perte de poids et durée d'expérience
d'animaux recevant un régime déséquilibré en sels
(85 + Sr) et de la vitamine D.*

<i>Rats N°</i>	<i>Poids initial (gr.)</i>	<i>Poids final (gr.)</i>	<i>Durée de l'expér. (jours)</i>	<i>Perte de poids tot. (%)</i>	<i>Perte de poids p. jour (gr.)</i>
R 63	218	124	62	43	1,50
R 36	147	111	26	24	1,38
R 64	125	85	47	32	0,85
R 62	125	80	54	35	0,83
R 60	113	90	37	22	0,85
R 65	104	78	62	25	0,42
R 61	99	87	54	17	0,31

Nous avons relevé, ci-dessous, 5 des courbes pondérales de nos animaux. Leur nombre nous a paru suffisant pour avoir une idée des variations de poids pendant la durée de l'expérience.

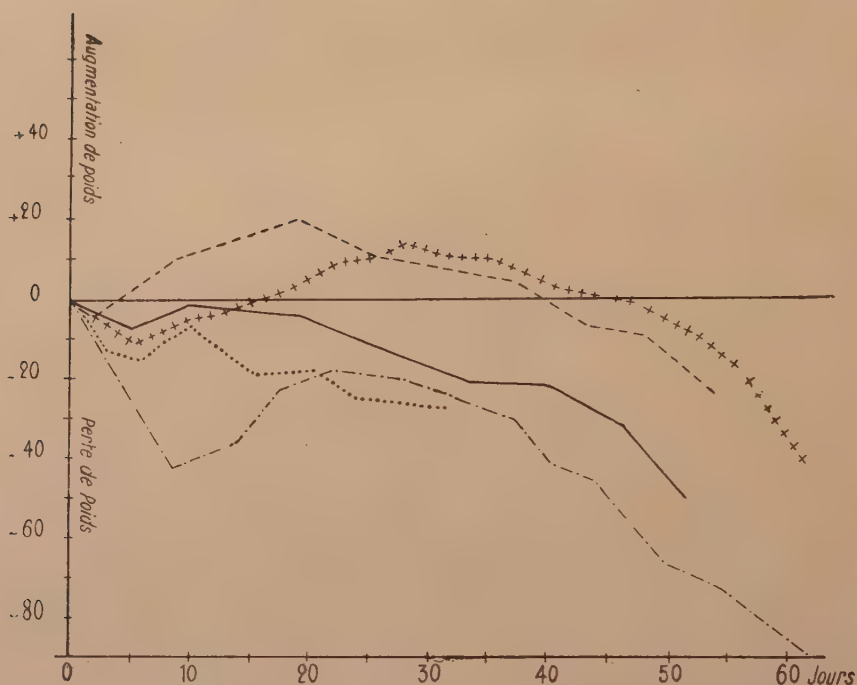


FIG. IX.— Variations de poids d'animaux préadultes et adultes soumis au régime 85+Sr+H.F.M. au cours de l'expérience.

— R 63 — R 60 — - - - - R 61 — xxx R 65 — ——— R 62

L'examen de ces courbes, comparativement au tableau précédent, montre qu'une perte de poids consécutive aux premiers jours qui suivent la mise en expérience, affecte tous les animaux indépendamment de

leur âge, mais qu'elle est d'autant plus grande que l'animal est plus vieux. Tandis que les courbes des animaux les plus jeunes (R 65, R 61) coupent l'axe, indiquant que ces animaux, au cours de l'expérience, dépassent leur poids initial, celles des animaux adultes restent au-dessous de celui-ci. Tout se passe comme si, après le trouble profond du métabolisme provoqué par le régime, l'organisme réagissait pour acquérir ou reprendre le maintien de sa « masse active » protoplasmique, sans pouvoir, en aucune façon, organiser ses réserves : cette réaction n'est que momentanée et ne persiste, en général, jamais au-delà du tiers de la durée de l'expérience.

II. — EXAMENS ANATOMIQUES ET RADIOGRAPHIQUES.

Le résultat de ces examens s'est révélé identique pour tous les animaux en expérience. Nous résumerons donc les observations que nous avons faites :

L'examen anatomique des os a décelé chez tous les animaux sans exception, de grosses lésions rachitiformes, de même ordre que celles que l'on observe chez les animaux qui ne reçoivent pas de vitamine D ; on constate, en effet : une forte déformation des tibias et des péronés qui présentent la courbure typique dite « en lame de sabre », et l'absence de densification nacréée de la tête du fémur.

L'examen macroscopique d'une coupe du tibia montre une hypertrophie régulière du cartilage de conjugaison qui atteint de 2 à 3 mm. de largeur et une hyper-

trophie considérable de la couche ostéoïde, avec plongée dans la diaphyse.

L'examen radiographique de l'animal entier ne décèle aucune lésion au niveau du cartilage. Les lésions ne s'observent que dans l'os pris isolément, à condition que le rayon incident soit parallèle au plateau tibial. On aperçoit alors une décalcification très marquée de l'ancien cartilage. Les reproductions des images radiographiques réunies sur la planche III donnent une idée du phénomène.

III. — EXAMENS CHIMIQUES.

En suivant la courbe de poids de Rats normaux, nous avons constaté que c'est entre le cinquième et le sixième mois, qu'ils atteignent leur poids définitif. Etant donné l'âge de nos animaux — trois mois au moins au moment de l'expérience — et la durée de celle-ci, nous pouvons admettre qu'ils auraient dû atteindre normalement l'âge adulte au bout d'un temps égal à cette durée.

Aussi, à la suite des tableaux où sont rassemblés les détails des différentes données étudiées, avons-nous ajouté le tableau XXXI. Ce tableau est un résumé des résultats obtenus, soit sur des animaux normaux (44 N, 45 N, 49 N, etc.) qui, au début de l'expérience, avaient respectivement des poids voisins de ceux des animaux carencés, soit sur les animaux adultes ayant atteint ou non leur poids initial maximum, soit enfin, sur des animaux au régime déséquilibré.

Les différentes données que nous avons étudiées sont :

le poids des os,
leur teneur en eau,
leur teneur en azote,
leur teneur en phosphore,
le rapport P/N.

1°) *Etude du poids des os.*

Les résultats sont consignés dans le tableau XXVII.

Leur ensemble, ainsi que ceux réunis dans le tableau XXXI, montre que le poids des os est resté, dans tous les cas, au moins égal à celui que l'on observe chez les animaux adultes normaux, pris à la fin de l'expérience. En dépit des lésions, la fixation des dépôts minéraux au niveau du squelette s'est poursuivie.

2°) *Etude de la teneur en eau.*

L'examen des tableaux XXVII et XXXI nous montre une augmentation très sensible de la teneur en eau des os.

Si nous examinons les valeurs individuelles, nous constatons que les écarts sont d'autant plus considérables que l'animal était plus jeune au moment de la mise en expérience ; ils atteignent de 20 à 22 % pour les Rats R 61 et R 65, dont la teneur en eau n'est pas différente de celle que l'on observe chez les animaux normaux de 100 gr. (poids de R 61 et R 65 au début de l'expérience).

TABLEAU XXVII
Poids et teneur en eau des os de Rats nourris
au régime 85 + Sr + HFM.

Rats Nos	Poids frais (gr.)			Poids sec (gr.)			Eau (%)		
	FD	FG	TG	FD	FG	TD	FG	FD	TG
R 63	0,782	0,775	0,537	0,435	0,424	0,329	44	44	39
R 64	0,504	0,474	0,385	0,251	0,247	0,215	50	48	44
R 62	0,452	0,437	0,315	0,240	0,232	0,185	46	46	39
R 60	0,417	0,439	0,361	0,238	0,240	0,206	43	45	42
R 65	0,425	0,430	0,315	0,202	0,203	0,161	52	52	48
R 61	0,490	0,458	0,337	0,233	0,229	0,175	53	50	48

Rappelons que nous avons observé une augmentation de la teneur en eau chaque fois que nous avons constaté l'existence de lésions osseuses, tant chez les animaux en croissance, que chez les animaux adultes ou préadultes. Rappelons également que, dans le rachitisme, la diminution de la teneur en eau va de pair avec la guérison spontanée.

3°) *Etude de l'azote.*

L'ensemble des résultats est réuni dans le tableau XXVIII.

En examinant les taux d'azote rapportés au poids frais des os, on constate que les variations individuelles ne présentent aucune particularité.

Les valeurs moyennes sont de 3,13 % pour les fémurs et 3,06 % pour les tibias. On peut dire qu'elles sont normales, car les os d'animaux adultes du chenil ont une valeur moyenne d'azote de 3,06 pour les fémurs et 3,09 pour les tibias.

Par contre, la teneur en azote rapportée au poids sec de l'os subit le contre-coup des fluctuations que nous avons observées pour la teneur en eau. C'est ainsi que chez les Rats carencés, la moyenne de ces valeurs est de 6,03 % pour les fémurs et 5,51 % pour les tibias, alors qu'elle est de 5,14 % pour les fémurs et 4,84 % pour les tibias de Rats normaux ; on trouve donc une augmentation du taux d'azote qui varie en moyenne de 14 à 18 %.

Si on considère les valeurs individuelles, ces écarts atteignent de 30 à 35 % chez les Rats R 61, R 65 chez

TABEAU XXVIII

*Teneur en azote des os de Rats nourris au régime
85 + Sr + HFM.*

<i>Rats Nos</i>	<i>Azote (mgr.)</i>			<i>Azote (%) du poids frais</i>			<i>Azote (%) du poids sec</i>		
	FD	FG	TG	FD	FG	TG	FD	FG	TG
R 63	24,32	23,7	17,24	3,14	3,00	3,09	5,59	5,59	5,24
R 64	14,86	15,75	12,10	2,94	3,32	3,14	5,92	6,38	5,62
R 62	13,80	12,6	10,04	3,05	2,90	3,18	5,75	5,43	5,42
R 60	12,1	14,18	10,1	2,92	3,40	2,79	5,08	5,90	4,90
R 65	14,8	13,52	9,75	3,48	4,07	3,09	7,34	6,61	6,16
R 61	15,2	14,30	10,42	3,10	3,11	3,09	6,52	6,16	5,63

lesquels nous avons observé également une augmentation considérable de la teneur en eau.

4°) *Etude du phosphore.*

Les tableaux XXIX et XXXI nous montrent que, dans tous les cas, les animaux au cours de l'expérience, et malgré le fort déséquilibre salin du régime, ont organisé ou conservé leur phosphore de réserve.

Cependant, les quantités de phosphore et les teneurs, par rapport au poids frais (5,9 et 6,9 % en moyenne), sont légèrement inférieures à celles que l'on observe dans les os des animaux adultes du chenil (7,1 et 7,6 %). Ces écarts sont beaucoup plus considérables chez les animaux jeunes de la série, que chez les adultes. Tout se passe donc comme si les dépôts minéraux s'effectuaient, mais à un rythme plus ralenti que chez les animaux recevant une nourriture standard.

La teneur en phosphore, exprimée en pour cent du poids sec des os (v. tableau XXXI), a des valeurs sensiblement plus élevées que chez les animaux normaux, confirmant la présence de dépôts salins.

5°) *Etude du P/N.*

L'examen des tableaux XXX et XXXI montre que dans l'ensemble le rapport P/N des os a augmenté au cours de l'expérience pour les Rats préadultes, et cela d'autant plus que les animaux étaient plus jeunes. Il est cependant inférieur à ceux d'animaux normaux de même poids.

TABLEAU XXIX

Teneur en phosphore des os de Rats nourris au régime
85 + Sr + HF.M.

Rats Nos	Phosphore (mgr.)			Phosphore (%) du poids frais			Phosphore (%) du poids sec		
	FD	FG	TG	FD	FG	TG	FD	FG	TD
R 63	48,6	48,0	39,7	6,20	6,19	7,39	11,14	11,32	12,07
R 64	29,0	29,1	25,8	5,75	6,13	6,70	11,55	11,78	12,00
R 62	26,5	26,8	22,9	5,86	6,13	7,27	11,04	11,55	12,37
R 60	22,8	26,4	31,7	5,46	6,01	6,01	9,57	10,95	10,93
R 65	24,0	24,0	20,2	5,60	5,58	6,41	11,88	11,83	12,50
R 61	28,4	27,6	22,9	5,79	6,01	6,70	12,18	12,05	12,91

Nous pouvons résumer ainsi l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette expérience :

1° Malgré l'adjonction de vitamine D, les animaux, à la suite du déséquilibre salin du régime, ont contracté des lésions osseuses.

2° La teneur en eau est anormale, tandis que les taux d'azote et de phosphore sont voisins de ceux d'animaux adultes. Le P/N augmente chez les animaux jeunes, diminue chez l'animal plus âgé.

TABLEAU XXX

*Rapport P/N des os de Rat nourris au régime
85 + Sr + HFM.*

<i>Rats</i> N ^{os}	<i>P/N</i>		
	FD	FG	TD
R 63	2,00	2,02	2,30
R 64	1,95	1,88	2,13
R 62	1,91	1,93	2,28
R 60	1,89	1,60	2,14
R 65	1,62	1,77	2,07
R 61	1,86	1,93	2,19

TABLEAU XXXI

Moyennes des différentes données relatives aux os
d'animaux normaux ou nourris au régime 85+Sr+Vit.D

Différentes données	Poids des Rats (gr.)	Rats normaux pris au début de l'expérience		Rats au régime 85+Sr		Rats normaux pris à la fin de l'expérience	
		Moyennes		Moyennes		Poids des Rats (gr.)	Moyennes
Poids frais des os (mgr.)	de 100 à 110	0,37	0,27	0,44	0,33	de 130 à 145 au-dessus de 150	Fémurs Tibias
	de 115 à 130	0,39	0,29	0,47	0,31		0,41 0,30
	au-dessus de 140	0,58	0,41	0,77	0,53		0,61 0,44
Eau (%)	de 100 à 110	54	47	50	46	de 130 à 145 au-dessus de 150	Fémurs Tibias
	de 115 à 130	49	45	49	43		
	au-dessus de 140	39	35	44	39		
Phosphore (mgr.)	de 100 à 110	14,0	13,1	25	21	de 130 à 145 au-dessus de 150	Fémurs Tibias
	de 115 à 130	13,8	12,7	28	24		
	au-dessus de 140	40,1	33,5	48	40		
Phosphore (% du poids sec)	de 100 à 110	8,7	9,13	11,1	11,9	de 130 à 145 au-dessus de 150	Fémurs Tibias
	de 115 à 130	10,2	10,9	11,5	12,1		
	au-dessus de 140	11,5	12,2	11,2	12,1		
P/N	de 100 à 110	1,2	1,3	1,8	2,1	de 130 à 145 au-dessus de 150	Fémurs Tibias
	de 115 à 130	1,8	2,0	1,9	2,2		
	au-dessus de 140	2,3	2,6	2,0	2,3		

DISCUSSION DES RESULTATS

Au cours de nos expériences, nous avons observé les résultats suivants :

1° *Les animaux recevant un régime déséquilibré en sels et de la vitamine D contractent des lésions rachitiformes tout comme les animaux privés de facteur D ⁽¹⁾. Donc, ce qui détermine ces lésions, c'est moins l'absence de facteur anti-rachitique que le déséquilibre salin du régime.*

2° *Cependant, tandis que l'absence de vitamine D détermine, en même temps que l'apparition des lésions, une déminéralisation intense, au contraire, l'adjonction de ce facteur au régime permet l'organisation ou la conservation, en partie tout au moins, des réserves minérales.*

Nos conclusions, dans ce cas, sont conformes à celles établies par Kletzien, Templin, Steenbock et Thomas (86-87), qui ont montré que l'irradiation d'un régime déterminait la couverture du besoin en calcium des animaux adultes, sans toutefois préserver le squelette d'une légère perte de calcium et de phosphore.

Il apparaît donc, d'une façon explicite, à la suite de nos deux séries d'expériences, ce que nous avons présenté au cours des chapitres précédents, que la déminéralisation ou la minéralisation sont indépendantes de

(1) V. chapitre III.

l'apparition ou de la guérison des lésions. En particulier, la vitamine D a une action directe sur le premier de ces phénomènes seulement. Ces faits rappellent d'ailleurs ceux que l'on observe en clinique. La thérapeutique actinique détermine chez les rachitiques une calcification et un remodelage assez rapide des os, mais n'atteignant pas le mal à sa source même, laisse subsister la plupart des symptômes qui accompagnent les déformations osseuses (Marfan, 69).

L'augmentation des dépôts salins, au niveau des os, sous l'influence de la vitamine D, peut s'expliquer, soit par une augmentation du phosphore ingéré, soit par une diminution de la quantité de phosphore éliminé. Il est évident que le phosphore contenu dans les trois gouttes d'huile de foie de morue que nous donnons à nos animaux ne peut, à lui seul, expliquer l'augmentation de cet élément que l'on observe au niveau des os.

Il est probable qu'une amélioration de l'état général des animaux, sous l'influence du facteur D, en excitant l'appétit, détermine une ingestion de nourriture, donc de phosphore, plus grande que chez ceux qui n'en reçoivent pas. De nombreuses recherches faites, en particulier par Brown et Shohl (88), ont montré l'heureuse influence de la vitamine D, sous les différentes formes, non seulement chez le sujet recevant une nourriture déficiente en sels, mais chez ceux qui sont placés dans des conditions favorables d'alimentation. Cependant, nous ne pouvons pas appliquer ce raisonnement dans le cas de nos expériences. Nos animaux sont morts dans un état de délabrement intense, après avoir perdu 30 à 40 % de leur poids.

L'augmentation du phosphore au niveau des os est donc due, non pas à une ingestion plus grande de cet élément, mais à une diminution de son élimination.

La résorption même du calcium, et par suite, du phosphore, disent Brown et Shohl, est indépendante du facteur D, dont l'action serait de régler le métabolisme minéral dans l'organisme même. Il interviendrait peut-être dans le maintien de l'état ionique des humeurs, et de l'équilibre acide-base, en réglant, d'une part, la solubilisation des sels de l'os, d'autre part, en les dirigeant vers les organes ou vers le rein, en déposant l'excès dans le grand réservoir minéral qu'est le squelette. En effet, depuis de nombreuses études faites sur l'hyper-*vitaminose*, en particulier par Light, Miller et Frey (89), Hess, Benjamin et Gross (90), Policard et Ravaud (91), Marfan et Dorlencourt (92), etc., il est prouvé que, si des doses modérées de facteur D provoquent la précipitation des dépôts calcaires au niveau des os, des doses massives provoquent la formation des dépôts minéraux hétérotopiques et une déminéralisation du squelette, si le taux en phosphore du régime est bas ; des os très durs et calcifiés, si le taux en phosphore de la ration est élevé.

Les quantités de vitamine D que l'on ingère à l'état normal maintiennent en harmonie, d'une part le phosphore nécessaire pour la régulation de l'équilibre acide-base ; d'autre part, le phosphore nécessaire pour l'élaboration du tissu osseux.

Notons que les théories émises pour l'explication du mode d'action fondamental de la vitamine D restent toutes dans le domaine des hypothèses. Pour Mac Gowan,

Cumingham et Anchinachic (93), ce facteur de la calcification provoquerait au niveau des tissus, à l'instar du chloroforme, une destruction des lipides « surtout dans les lobules du foie » qui libéreraient du phosphore dont le taux serait, de ce fait, augmenté dans le courant circulatoire ; le rôle des phosphates osseux, dans le maintien de l'équilibre minéral, se trouvant alors diminué, permettrait la rétention de ses sels au niveau du squelette. Cette hypothèse est plausible, à condition que l'on admette que chez l'animal en croissance cette destruction se fait aux dépens des phospho-lipides dont l'organisme fait la synthèse, grâce aux aliments ingérés et qu'il détruirait immédiatement après ; ce fait est peu probable.

Bien que n'ayant pas encore été étayé par de nouvelles expériences, la théorie de Dhar (31) nous paraît plus vraisemblable ; cet auteur a montré d'abord, en collaboration avec Palit (94-95), d'une part, que les graisses, les hydrates de carbone sont plus facilement oxydés en présence d'alcalins, que cette oxydation est plus complète, le terme ultime étant CO_2 et non pas des produits intermédiaires ; d'autre part, que l'oxydation de ces mêmes substances *in vitro* est facilitée par la lumière et les vitamines A et D (96). Il conçoit alors que, dans l'organisme, la vitamine D favoriserait la complète oxydation des graisses et des hydrates de carbone et relèverait le pH sanguin.

Dans ces conditions, la conservation de la base se faisant par un processus différent que celui que l'on observe normalement, diminuerait le rôle du $\text{P}^{25}\text{O}^{5-}$ dans l'établissement du seuil rénal d'où l'inutilité du phos-

phore endogène ou exogène pour la régulation de l'équilibre acide-base et l'augmentation ou la non diminution des sels minéraux au niveau de l'os.

Comment expliquer que la vitamine D favorise la précipitation des sels de réserves, alors qu'elle n'a aucune action sur le tissu osseux fondamental ? *Il semblerait que lorsque la présence d'un excès de métaux alcalino-terreux dans le régime détermine un « appel » de phosphates pour leur élimination, si l'animal ne reçoit pas de vitamine D, ce sont les réserves qui sont mobilisées en premier lieu (cas des Rats R 27 et R 28 du Chapitre III).*

Si l'animal reçoit de la vitamine D, celle-ci s'opposant à la mobilisation des réserves, c'est le phosphore du tissu osseux fondamental qui participe seul à la couverture de ce besoin en phosphore. En particulier, le tissu osseux formé en dernier lieu, l'ancien cartilage de conjugaison, présentant sans doute un point de faiblesse, c'est à ce niveau qu'apparaissent les lésions. Mais le tissu osseux fondamental ne présentant qu'une malléabilité relative, par rapport à celle des réserves, il s'en suit, malgré la présence des lésions, un taux de phosphore très voisin de la normale.

V. Etude de l'azote, du phosphore, et du rapport P/N de l'os chez le Rat soumis à l'inanition protéique.

Au cours de ce chapitre, nous nous occuperons des variations de la composition chimique des os provoquée par l'ingestion d'un régime privé d'azote.

Il semble que la première modification qui puisse être provoquée, au niveau des os par l'inanition protéique soit une variation de la teneur en azote impliquant un trouble intéressant la partie organique de l'os. En effet, nous savons, depuis les recherches de A. Roche (68), que ce régime détermine une désintégration des protéines musculaires ; il aurait pu se faire que cette désintégration fut générale à toutes les protéines tissulaires. Etant donné, comme nous l'avons exposé au cours de notre introduction, le lien étroit qui unit la partie protéique de l'os à son complexe phospho-calcaire, nous pouvions nous attendre également à des variations de la teneur en phosphore impliquant des troubles de la calcification.

Nous avons complété l'étude de l'ossification chez les animaux soumis à l'inanition protéique par l'examen d'un animal soumis à un régime à la fois sans azote et sans phosphore. Ici, encore, les résultats obtenus semblent, à priori, paradoxaux. Nous pourrions les expliquer grâce aux résultats obtenus au cours des différentes carences.

A. — RATS SOUMIS A UN REGIME DESEQUILIBRE EN AZOTE

Nous avons suivi la technique mise au point par A. Roche (68).

MARCHE DES EXPERIENCES

Nos observations ont été faites sur 12 animaux adultes. L'examen particulier des os n'ayant révélé aucune déformation, ni aucune lésion à la coupe histo-macrosopique, nos données n'ont porté que :

- 1° Sur l'étude de la courbe de poids des animaux.
- 2° Sur l'étude de la composition chimique de leurs os.

I. — COURBE DE POIDS DES ANIMAUX.

Les Rats ont été mis en expérience alors qu'ils pesaient de 150 à 220 grammes. Ils ont maigri dès la mise

TABLEAU XXXII

*Relations entre la perte de poids
et la durée de l'expérience
chez les animaux adultes soumis à l'inanition protéique.*

Rats N°	Poids initial en gr.	Poids final en gr.	Durée de l'expér. en jours	Perte de poids total en %	Perte journ. de poids en gr.
41 IP	163	93	17	41	4,11
47 IP	153	85	27	44	2,51
50 IP	161	102	27	37	2,17
43 IP	158	90	28	42	2,42
48 IP	153	92	30	39	2,03
51 IP	158	83	30	46	2,50
52 IP	143	68	30	52	2,50
49 IP	178	67	35	62	3,17
46 IP	172	83	37	46	2,40
44 IP	196	91	37	53	2,83
45 IP	226	102	38	54	3,26
42 IP	175	86	38	50	2,54

au régime et surtout les premiers jours. Leur perte de poids est continue jusqu'à leur mort, qui survient au bout de 35 jours en moyenne, et alors qu'ils ont perdu de 42 à 62 % de leur poids initial. Ils ne présentent

cependant aucun trouble fonctionnel grave apparent ; c'est ainsi que le Rat 49 IP a accouché après 17 jours de jeûne protéique, alors que la durée de gestation est de 20 jours chez le Rat.

Le rat 41 IP a maigri très vite et est mort au bout de 17 jours, sans qu'il nous ait été possible de déterminer si la mort était due à l'inanition protéique doublée d'inanition totale ou à une complication d'ordre pathologique. Cependant, d'une façon générale, comme l'indique le tableau XXXII, la durée de l'expérience, qui est déterminée par la mort des animaux, est proportionnelle à la taille initiale de chacun d'eux.

II. — EXAMENS CHIMIQUES.

Ces examens ont été effectués suivant la même technique que précédemment.

1°) *Etude du poids des os.*

L'ensemble de ces résultats est consigné dans les tableaux XXXIII et XXXIV.

Les os frais pèsent en moyenne de 0,493 gr. (fémurs) à 0,360 gr. (tibias).

Les os secs atteignent une moyenne de 0,278 gr. pour les fémurs et 0,214 gr. pour les tibias.

Les moyennes du poids des fémurs et des tibias d'animaux normaux complètement adultes et de même poids initial sont respectivement de :

0,590 et 0,425 gr. à l'état frais

0,360 et 0,270 à l'état sec.

TABLEAU XXXIII

Poids frais des os d'animaux normaux ou soumis à l'inanition protéique.

Animaux normaux					Animaux à l'inanition protéique				
Rats N°	Poids des os (gr.)				Rats N°	Poids des os (gr.)			
	FD	FG	TD	TG		FD	FG	TD	TG
22 N	0,468	0,484	0,370	0,355	52 IP	0,399	0,390	0,284	0,265
60 N	0,547	0,532	0,401	0,418	47 IP	0,494	0,519	0,354	0,335
					48 IP	0,569	0,534	0,368	0,374
59 N	0,554	0,540	0,394	0,335	51 IP	0,486	0,433	0,332	0,316
					41 IP	0,455	0,497	0,427	0,346
					43 IP	0,436	0,419	0,324	0,318
					50 IP	0,538	0,547	0,425	0,440
57 N	0,721	0,659	0,441	0,499	46 IP	0,520	0,524	0,374	0,407
					42 IP	0,481	0,492	0,356	0,375
					49 IP	0,428	0,426	0,335	0,336
65 N	0,673	0,674	0,469	0,492	44 IP	0,486	0,522	0,396	0,344
					45 IP	0,624	0,622	0,437	0,454
Moyenne :	0,592	0,578	0,435	0,418	Moyenne :	0,493	0,493	0,367	0,360

TABLEAU XXXIV

Poids secs des os d'animaux normaux ou soumis à l'inanition protéique.

Animaux normaux				Animaux à l'inanition protéique			
Rats N°	Poids des os (gr.)			Rats N°	Poids des os (gr.)		
	FD	FG	TG		FD	FG	TG
22 N	0,286	0,286	0,230	52 IP	0,216	0,215	0,170
60 N	0,325	0,320	0,266	47 IP	0,274	0,284	0,208
				48 IP	0,312	0,287	0,217
59 N	0,332	0,328	0,240	51 IP	0,277	0,253	0,202
				41 IP	0,262	0,276	0,237
				43 IP	0,250	0,251	0,202
57 N	0,499	0,394	0,291	50 IP	0,303	0,317	0,240
				46 IP	0,272	0,294	0,229
				42 IP	0,273	0,275	0,209
65 N	0,412	0,408	0,312	49 IP	0,263	0,260	0,197
				44 IP	0,277	0,315	0,232
				45 IP	0,360	0,359	0,278
Moyenne :	0,370	0,350	0,275	Moyenne :	0,277	0,282	0,220
			0,268				0,210

TABEAU XXXV

Teneur en eau des os d'animaux normaux ou soumis à l'inanition protéique.

Animaux normaux					Animaux à l'inanition protéique				
Rats N°	Eau %				Rats N°	Eau %			
	FD	FG	TD	TG		FD	FG	TD	TG
22 N	39	40	35	35	52 IP	46	44	42	42
60 N	40	40	30	36	47 IP	44	45	41	41
					48 IP	45	46	41	45
59 N	39	40	36	34	51 IP	42	41	38	41
					41 IP	42	44	44	38
					43 IP	43	40	37	37
57 N	31	40	30	33	50 IP	45	42	43	49
					46 IP	46	44	38	44
					42 IP	43	41	41	41
65 N	39	39	34	38	49 IP	39	38	41	44
					44 IP	43	39	41	35
					45 IP	42	42	36	38
Moyenne :	38	40	33	35	Moyenne :	44	42	40	41

Nous constatons chez les inanitiés protéiques une diminution de 20 à 25 %. Cette perte nous paraît dépasser les écarts individuels et nous croyons pouvoir dire dès maintenant, que la perte de poids observée chez ces animaux, en fin d'expérience, est due non seulement à la perte de leurs réserves hydrocarbonées et d'une partie de leurs protéines musculaires, mais fort probablement aussi à celle d'une partie de leur squelette. Nous verrons dans quelques instants quelle est la partie : protéique ou minérale qui participe le plus à cette désintégration du squelette.

2°) *Etude de la teneur en eau.*

Les valeurs concernant cet élément ont été réunies dans le tableau XXXV. La valeur moyenne de la teneur en eau est de 43 % pour les fémurs et de 40 % pour les tibias.

En comparant ces valeurs à celles que l'on obtient chez les animaux normaux, nous constatons, chez les animaux à l'inanition protéique, une augmentation de l'hydratation des os qui atteint de 14 à 16 %, augmentation qui dépasse ici encore les écarts individuels. Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus par A. Roche (65) sur les muscles de Rats soumis à l'inanition protéique ou totale, et par Cahn et Bonot (84) et d'autres auteurs, sur les différents tissus, en particulier sur les muscles de Lapins, de Poulets, etc., à la suite de l'inanition totale.

Est-ce que cette augmentation de la teneur en eau est due à la disparition des lipides de la moelle de l'os au cours de l'inanition protéique ? Ou bien traduit-elle une perturbation de la matrice protéique de l'os ? L'étude de l'azote est susceptible de nous fournir quelques renseignements à ce sujet.

3°) *Etude de l'azote.*

Les valeurs relatives à cet élément sont consignées dans les tableaux XXXVI, XXXVII et XXXVIII.

La moyenne des quantités d'azote obtenues est pour les fémurs de 15 mgr. 4 et pour les tibias 11 mgr. 3. Ramené au poids frais, le taux de cet élément est de 3 % environ dans tous les os, tandis que par rapport au poids sec, cette même valeur est de 5,3 %. Comparativement aux valeurs obtenues chez les Rats normaux, elles sont voisines de celles-ci pour ce qui est du taux d'azote rapporté au poids frais.

Bien que les os de rats normaux contiennent plus d'azote que les os d'inanitiés protéiques, le taux de cet élément rapporté au poids sec présente cependant pour ces derniers une augmentation de 10 % environ par rapport à celui d'os normaux. Ceci s'explique sans doute par le fait que le poids du squelette a diminué et, à cette perte participe beaucoup plus les complexes minéraux que la protéine de l'os.

TABLEAU XXXVI

Quantités d'azote contenues dans les os de Rats normaux ou soumis à l'inanition protéique.

Animaux normaux				Animaux à l'inanition protéique			
Rats N°	Azote (mgr.)			Rats N°	Azote (mgr.)		
	FD	FG	TD		FD	FG	TG
22 N	15,42	15,02	12,08	52 IP	12,00	11,62	8,40
60 N	16,60	15,72	12,20	47 IP	14,12	15,58	10,26
				48 IP	18,56	16,54	12,10
59 N	17,40	16,64	12,28	51 IP	15,36	15,34	10,40
				41 IP	14,85	15,82	15,00
				43 IP	14,16	14,00	11,10
				50 IP	16,32	15,44	12,74
57 N	18,60	19,54	12,96	46 IP	13,85	"	10,75
				42 IP	15,84	14,28	10,95
				49 IP	14,50	14,84	10,80
65 N	19,96	20,00	12,90	44 IP	16,34	16,52	13,10
				45 IP	19,62	19,42	13,40
Moyenne :	17,6	17,4	12,5	Moyenne :	15,5	15,4	11,5
			12,8				11,2

TABLEAU XXXVII

Taux d'azote rapporté au poids frais des os d'animaux normaux ou soumis à l'inanition protéique.

Animaux normaux					Animaux à l'inanition protéique				
Rats N°	Azote %				Rats N°	Azote %			
	FD	FG	TD	TG		FD	FG	TD	TG
22 N	3,29	3,10	3,26	3,16	52 IP	3,00	3,95	2,84	3,32
60 N	3,03	2,95	3,04	3,14	47 IP	2,84	2,99	2,89	2,93
					48 IP	3,27	2,60	3,29	3,16
59 N	3,16	3,26	3,11	3,29	51 IP	3,16	3,16	3,08	3,32
					41 IP	3,28	3,18	3,51	3,61
					43 IP	3,24	3,43	3,34	3,33
					50 IP	3,03	2,82	3,00	2,35
57 N	2,57	2,96	2,93	2,87	46 IP	2,64	"	2,86	"
					42 IP	3,29	2,90	3,07	3,21
					49 IP	3,39	3,45	3,19	3,03
65 N	2,09	2,90	2,80	3,10	44 IP	3,37	3,16	3,32	3,27
					45 IP	3,14	3,12	3,06	3,00
Moyenne :	2,8	3,0	3,0	3,1	Moyenne :	3,2	3,3	3,1	3,1

TABLEAU XXXVIII

Taux d'azote rapporté au poids sec des os d'animaux normaux ou soumis à l'inanition protéique

Animaux normaux					Animaux à l'inanition protéique				
Rats N°	Azote %				Rats N°	Azote %			
	FD	FG	TD	TG		FD	FG	TD	TG
22 N	5,39	5,25	5,14	4,88	52 IP	5,55	5,40	4,93	5,09
60 N	5,12	4,91	4,43	4,50	47 IP	5,15	6,28	4,93	5,04
					48 IP	5,94	5,72	5,57	5,32
59 N	5,24	5,07	4,86	5,07	51 IP	5,54	5,14	5,27	5,65
					41 IP	6,65	5,73	6,33	5,88
					43 IP	5,66	5,49	5,57	5,32
57 N	3,89	4,96	4,23	4,28	50 IP	5,38	4,87	5,30	5,08
					46 IP	4,71	3,00	4,69	"
					42 IP	5,80	5,19	5,24	5,42
65 N	4,60	4,80	4,20	4,90	49 IP	5,53	5,70	5,32	5,52
					44 IP	5,88	5,24	5,64	5,05
					45 IP	5,45	5,40	4,80	4,87
Moyenne :	4,8	5,0	4,6	4,7	Moyenne :	5,6	5,3	5,3	5,3

4°) *Etude du phosphore.*

Les valeurs relatives à cet élément sont consignées dans les tableaux XXIX, XL et XLI.

La moyenne des quantités de phosphore est de 32 mgr. dans les fémurs, 25 mgr. dans les tibias ; ramené au poids frais des os, le taux de cet élément est respectivement : 6,4 et 7,2 ; rapporté au poids sec de ces os, ce taux est de 11,11 à 11,41.

Nous observons, par rapport aux Rats normaux, une diminution de 20 à 25 % de la quantité de phosphore contenu dans les os et du taux de cet élément rapporté au poids frais, tandis que son taux rapporté au poids sec reste sensiblement normal.

5°) *Etude du rapport P/N.*

Le tableau XLII montre que la moyenne de ce rapport est de 2 pour les fémurs, 2,2 pour les tibias. Les écarts avec les os de Rats normaux varient de 11 à 15 % et traduisent une modification de la composition chimique des os, au cours de l'inanition protéique.

TABLEAU XXXIX

Quantités de phosphore contenues dans les os de Rats normaux ou soumis à l'inanition protéique.

Animaux normaux					Animaux à l'inanition totale				
Rats N°	Phosphore (mgr.)				Rats N°	Phosphore (mgr.)			
	FD	FG	TD	TG		FD	FG	TD	TG
22 N	32,50	30,50	25,30	24,48	52 IP	24,51	25,70	24,92	20,42
60 N	39,81	37,80	34,62	31,70	47 IP	31,50	31,43	25,00	24,82
					48 IP	36,82	34,06	26,67	26,67
59 N	36,42	38,21	28,00	28,41	51 IP	29,71	29,30	23,00	20,51
					41 IP	27,92	28,45	23,70	24,95
					43 IP	29,32	29,45	24,51	24,10
					50 IP	35,84	36,81	28,22	26,80
57 N	43,75	44,01	36,25	33,75	46 IP	31,61	"	25,10	"
					42 IP	30,12	28,00	22,01	23,00
					49 IP	29,24	29,61	21,52	22,41
65 N	49,20	49,41	37,32	38,41	44 IP	33,20	35,72	29,91	28,50
					45 IP	40,41	38,52	27,80	30,00
Moyenne :	40,3	40,	32,3	31,3	Moyenne :	31,6	33,3	26,0	24,7

TABLEAU XL

*Taux de phosphore rapporté au poids frais des os de Rats normaux
ou soumis à l'inanition protéique.*

<i>Animaux normaux</i>				<i>Animaux à l'inanition protéique</i>			
<i>Rats N°</i>	<i>Phosphore %</i>			<i>Rats N°</i>	<i>Phosphore %</i>		
	ED	FG	TD		ED	FG	TD
22 N	6,97	6,30	6,84	52 IP	6,14	6,59	7,10
60 N	7,28	7,10	8,62	47 IP	6,37	6,07	7,04
				48 IP	6,37	6,35	7,24
59 N	6,56	7,07	7,08	51 IP	6,14	6,75	6,89
				41 IP	6,13	5,72	5,53
				43 IP	6,72	7,02	7,56
				50 IP	6,70	6,75	6,63
57 N	6,06	6,67	8,22	46 IP	6,03	6,03	6,71
				42 IP	6,25	6,13	6,18
				49 IP	6,83	6,85	6,40
65 N	7,31	7,32	7,95	44 IP	6,83	6,83	7,08
				45 IP	6,47	6,20	6,37
Moyenne :	6,8	6,9	7,7	Moyenne :	6,4	6,4	7,5
							7,0

TABLEAU XLI

Taux de phosphore rapporté au poids sec des os de Rats normaux
ou soumis à l'inanition protéique.

Animaux normaux					Animaux à l'inanition protéique				
Rats N°	Phosphore %				Rats N°	Phosphore %			
	FD	FG	TD	TG		FD	FG	TD	TG
22 N	11,39	10,70	10,76	10,64	52 IP	11,34	11,96	12,35	13,39
60 N	12,21	11,81	12,58	11,91	47 IP	11,49	11,05	12,05	12,71
					48 IP	11,79	11,84	12,29	12,29
59 N	10,96	11,64	11,11	11,79	51 IP	10,71	11,56	11,38	11,03
					41 IP	10,53	10,30	10,00	11,65
					43 IP	11,71	11,73	12,11	12,11
57 N	8,80	11,16	11,84	11,59	50 IP	11,60	11,60	11,75	12,07
					46 IP	10,81	10,81	10,95	"
					42 IP	11,02	10,36	10,52	10,36
65 N	11,94	12,10	12,11	12,30	49 IP	11,16	11,27	10,89	11,48
					44 IP	11,98	11,33	12,02	12,77
					45 IP	11,25	10,72	10,00	10,71
Moyenne :	11,1	11,5	11,7	11,7	Moyenne :	11,2	11,1	11,3	11,7

TABLEAU XLII

Rapport P/N des os d'animaux normaux ou soumis à l'inanition protéique.

Animaux normaux					Animaux à l'inanition protéique				
Rats N°	P/N				Rats N°	P/N			
	FD	FG	TD	TG		FD	FG	TD	TG
22 N	2,11	2,03	2,08	2,17	52 IP	2,04	2,21	2,96	2,32
60 N	2,46	2,47	2,88	2,47	47 IP	2,23	2,02	2,43	2,52
					48 IP	1,98	2,05	2,20	2,25
59 N	2,16	2,17	2,28	2,35	51 IP	1,93	1,91	2,29	1,95
					41 IP	1,86	1,79	1,56	1,97
					43 IP	2,06	2,10	2,30	2,36
57 N	2,34	2,25	2,79	2,71	50 IP	2,19	2,38	2,21	"
					46 IP	2,28	"	2,33	"
					42 IP	1,96	1,96	2,00	1,99
65 N	2,46	2,47	2,88	2,47	49 IP	2,01	2,00	2,00	2,07
					44 IP	2,03	2,52	2,13	2,44
					45 IP	2,05	1,98	2,07	2,20
Moyenne :	2,3	2,3	2,6	2,4	Moyenne :	2,05	2,1	2,4	2,0

DISCUSSION DES RESULTATS

Les modifications du squelette provoquées par l'inanition protéique atteignent :

d'une part, la matrice protéique,
d'autre part, les dépôts salins.

En effet, nous avons observé les modifications de la teneur en eau, dont les écarts sont loin d'être comparables cependant à ceux que nous avons vus au cours des lésions rachitiques ou pseudo-rachitiques. Nous nous sommes demandés tout d'abord si cette augmentation du degré d'hydratation n'était pas due seulement à la perte des lipides de la moelle. Or, l'étude de l'azote nous a montré qu'à la suite de l'inanition protéique une légère quantité d'azote des os avait été perdue par le squelette, impliquant le fait, qu'au cours de l'expérience, l'azote des os participe à la couverture des besoins de l'animal. Cependant, cette participation est restreinte et nous pouvons dire que, dans le jeûne protéique, les dépôts salins sont également touchés.

En effet, les quantités de phosphore sont nettement inférieures à la normale, et le taux de cet élément rapporté au poids frais est abaissé, tandis que le taux rapporté au poids sec et sensiblement voisin de la normale, bien que *le poids de ces os ait diminué de 20 à 25 %*.

Quelle est la cause de cette déminéralisation ? Est-ce parce que la matrice organique est quelque peu modifiée que les troubles de la calcification s'en suivent ? Un examen histologique de l'os aurait pu seul nous éclair-

rer. Quoi qu'il en soit, l'inanition protéique détermine la mobilisation des phosphates osseux et la perte de poids observée en fin d'expérience est supportée, non seulement par la fonte des réserves tertiaires et des protéines musculaires, mais aussi par celle des réserves minérales. Il est fort probable, en effet, bien que les variations de l'ammoniurie, au cours de l'inanition protéique, n'ait pas permis de témoigner de l'existence d'une acidose (A. Roche) (68), que l'équilibre acide-base, dans de telles conditions expérimentales, soit en grande partie maintenu grâce à la mobilisation des phosphates de l'os.

En faveur de cette dernière hypothèse, nous rapportons, bien que l'expérience n'ait porté que sur un animal, les résultats des modifications observées dans la composition chimique des os d'un Rat nourri à un régime à la fois déséquilibré en azote et en phosphore.

B. — RATS SOUMIS A UN REGIME DESEQUILIBRE EN AZOTE ET EN PHOSPHORE

Nous résumons rapidement les données observées au cours de cette expérience qui porteront :

- 1° sur la courbe de poids,
- 2° sur l'examen histo-macroscopique,
- 3° sur l'examen chimique.

I. — COURBE DE POIDS.

Cet animal, mis en expérience, alors qu'il pesait 143 grammes, est mort n'en pesant plus que 80 gr., après avoir perdu 44 % de son poids initial. Cette perte est inférieure à la moyenne observée chez les Rats inaniés protéiques et reste dans l'ordre de grandeur de celle des Rats soumis à un régime déséquilibré en sels. L'amaigrissement a été continu pendant toute la durée de l'expérience, bien que le poids ait une tendance à la stabilisation entre le douzième et le seizième jours qui ont suivi la mise au régime.

II. — EXAMEN ANATOMO-MACROSCOPIQUE.

A l'autopsie, l'animal présentait de grosses lésions osseuses : cartilages de conjugaison très élargis et très réguliers, couche ostéoïde hypertrophiée. Nous avons observé une fracture du tibia droit, qui devait remonter à longtemps, car il y avait réparation, avec grosse calcification.

III. — EXAMENS CHIMIQUES.

Les résultats des différents examens chimiques sont consignés dans le tableau XLIII.

Le poids des os est resté relativement normal et présente des valeurs voisines de la moyenne des os normaux, voisines également de celle des animaux nourris au 85 + Sr, mais recevant de la vitamine D. Par contre,

elle est à la fois supérieure à celle des animaux inanitiés et à celle des animaux ne recevant pas de vitamine D. La teneur en eau est également normale.

TABLEAU XLIII

*Différentes données relatives aux os (fémurs et tibias)
d'un Rat soumis à un régime privé de phosphore
et d'azote.*

	FD	FG	TD	TG
Poids frais	0,456	0,440	0,422 ⁽¹⁾	0,287
Poids sec	0,282	0,275	0,286 ⁽²⁾	0,189
Teneur en eau	38 %	40 %	32 %	34 %
Phosphore en mgr.	31,50	30,30	30,75	21,10
Azote en mgr.	14,50	13,45	13,05	9,60
Phosphore en % du poids frais	6,90	6,86	7,28	7,35
Phosphore en % du poids sec	11,61	11,05	10,71	11,22
Azote en % du poids frais	3,17	3,04	3,09	3,34
Azote en % du poids sec.	5,14	4,89	4,75	5,10
P/N ..	2,23	2,36	2,31	2,19

Quelles que soient les données que l'on envisage, azote ou phosphore, elles sont rigoureusement normales. Elles ne présentent pas de différences suffisantes,

(1) Ce que nous avons désigné par tibia droit comprend le tibia plus le péroné, scudés au moment de la guérison de la fracture.

(2) Le tibia gauche est privé de son épiphyse.

ni avec les valeurs d'inanitiés protéiques, ni avec celles d'animaux normaux, pour qu'on puisse tirer une conclusion.

— Il nous est difficile de juger le P/N des deux tibias, étant donnée la nature des deux prélèvements. En ce qui concerne les fémurs, ici encore le P/N est normal, et voisin de ceux des os d'animaux adultes recevant en même temps qu'un régime déséquilibré en sels, de l'huile de foie de morue. Dans les deux cas, malgré la persistance des lésions rachitiques, le rapport P/N est très voisin de la normale.

Nous sommes ici en présence d'un animal qui n'a reçu ni azote, ni phosphore ; à la suite de ce régime, les lésions rachitiques sont apparues. Les taux en azote et en phosphore, le P/N des os, sont cependant normaux, montrant qu'il n'y a pas eu déminéralisation (1).

Est-ce que l'alcalinité du régime a suffi à corriger l'acidose déclanchée par l'inanition protéique, et a rendu, de ce fait, inutile l'intervention des phosphates exogènes ou endogènes pour la régulation de l'équilibre acide-base ?

(1) Les résultats seront confirmés par l'étude de la composition totale de l'organisme dans la III^e partie.

VI. Discussion générale de la deuxième partie.

L'ensemble des résultats obtenus dans les expériences exposées au cours de cette deuxième partie du travail, nous a montré les faits suivants :

Dans certains cas, en même temps que la présence de lésions osseuses, nous avons observé une déminéralisation d'autant plus intense que l'animal est plus vieux. C'est ainsi par exemple que dystrophies et déminéralisation sont allées de pair, chez des animaux jeunes nourris au régime RL pendant les 16 premiers jours de l'expérience, de même chez les animaux préadultes ou adultes nourris au régime 85 additionné de CO^3Sr ou de CO^3Ca .

Dans d'autres cas, nous avons noté soit une déminéralisation très nette, soit le défaut de minéralisation du squelette, en l'absence de toutes lésions ; c'est ce que nous avons observé, chez les animaux à l'inanition protéique, chez les animaux au régime 85 + Sr, pendant les 8 premiers jours de l'expérience, et chez les animaux au régime RL en voie de guérison spontanée.

Enfin, dans certains cas, nous avons observé des lé-

sions osseuses assez graves, bien que la "démínéralisation soit à peine sensible chez des animaux soumis au régime 85+Sr+HFM, ou chez le Rat recevant un régime sans azote et sans phosphore.

Ces différentes considérations impliquent que les régimes sont susceptibles de provoquer *séparément, soit une désintégration du tissu osseux fondamental, soit une mobilisation des réserves minérales ; ces deux phénomènes pouvant rester indépendants l'un de l'autre.* Ils sont, cependant, tous deux sous l'influence de l'équilibre acide-base des humeurs. En effet, que la précipitation des phosphates se fasse en vue de l'élaboration du tissu osseux fondamental ou de l'organisation des réserves, elle est sous la dépendance du pH des humeurs. C'est pourquoi, on observe si souvent, simultanément, jusqu'à les faire confondre, les dystrophies osseuses et la déminéralisation.

La précipitation des phosphates étant réglée par l'équation :

$$(\text{PO}_4)^2 \times (\text{Ca})^3 = \text{K}'$$

la valeur de K' dépend des variations du pH des humeurs et de leur concentration en ions PO_4^{4-} et Ca^{++} . Tout régime susceptible de troubler l'un ou l'autre de ces facteurs (régime acidogène, régime alcalin) détermine la solubilisation des sels osseux, laquelle, nous l'avons vu, se fait avant tout aux dépens des réserves minérales.

Néanmoins, la désintégration du tissu osseux fondamental paraît être soumise à l'influence d'un facteur local. On peut penser à des troubles phosphatasiques.

Or, la phosphatase existe dans le sang et l'os des rachitiques. Son activité est accrue par rapport à celle des os normaux. Dès 1923, Robison (13) signalait que, dans des conditions expérimentales déterminées, la phosphatase osseuse du Rat rachitique hydrolysait de 70 à 77 % du glycérophosphate, celle des Rats normaux, de 31 à 51 % seulement. Policard, Péhu, Roche et Boucomont (98) ont montré que le cartilage rachitique contient un excès de phosphatase, mais que les proportions de cet enzyme dans les différentes zones du cartilage sont sensiblement les mêmes que normalement, mais qu'elles sont augmentées dans la métaphyse.

Nous ne devons pas cependant oublier l'idée suggérée dernièrement par Policard et ses collaborateurs : c'est que l'activité de la phosphatase est largement influencée par des substances favorisantes ou inhibitrices et surtout par la réaction du milieu. Depuis les travaux de Kay et de Robison, on sait que le pH optimum d'action des phosphatases osseuses est voisin de 9 ; toute modification des humeurs ou de la lymphe périosseuse, en dehors de ce pH, risque de troubler l'action phosphatasique.

Ainsi, bien que le rôle de l'équilibre acide-base dans la pathogénie du rachitisme et sa décalcification soit, à l'heure actuelle, très discutée, il nous paraît cependant difficile de le nier. Que la mauvaise résorption intestinale du calcium et du phosphore, sous l'influence d'un régime alcalin, détermine indirectement de l'acidose ou que celle-ci soit provoquée directement par l'ingestion de substances acidogènes, le résultat est le même : c'est la mobilisation des phosphates osseux qui

paraît intervenir d'une façon évidente pour rétablir le trouble observé, soit en « tamponnant » les humeurs, soit en permettant l'excrétion d'une urine plus acide que celles-ci ; donc, en rétablissant leur équilibre.

Les nombreuses divergences observées dans les conclusions des différents auteurs sont, elles-mêmes, en faveur de cette conception : si le jeûne est susceptible de provoquer la guérison des lésions rachitiques établies par un régime alcalin, il est susceptible, chez les animaux normaux jeunes, de provoquer l'évolution de ces mêmes lésions. De même, les substances acidogènes sont susceptibles, nous l'avons vu, de provoquer des dystrophies osseuses. Cependant, leur ingestion à dose modérée est susceptible de les guérir (rôle des phosphates dans le rachitisme).

De sorte que, si les théories de Freudenberg et Gyorgy (99), celle de Blum, Delaville et Van Căulaert (57), celles, plus récentes, de Leenhardt et Chaptal (100), sont, à l'heure actuelle, encore controversées (Hess (79), Shohl, Brown, Smith et Cozard (101), Fabrykant et Labbé (59-101), etc...), elles restent susceptibles d'avoir fait jouer à l'équilibre acide-base, son rôle exact dans le rachitisme et la déminéralisation.

Troisième Partie

Etude du phosphore total
chez les Rats normaux ou soumis
à différentes carences.

On sait que le phosphore du squelette représente les 70 à 75 % du phosphore total de l'organisme. Ces proportions sont suffisantes pour que, dans la plupart des cas, les variations subies par le phosphore des os déterminent des variations parallèles du phosphore total de l'organisme. L'étude de celui-ci nous permettra donc de confirmer les différents résultats obtenus au cours des deux premières parties. Aussi, avons-nous, dans la troisième partie de ce travail, réuni les variations de la teneur en phosphore des organismes entiers, soit :

1° sur l'animal adulte, au cours de la croissance et à l'état adulte,

2° sur l'animal soumis à différentes carences ⁽¹⁾.

(1) Ces données ne constituent qu'une partie d'un ensemble de recherches qui seront rassemblées par ailleurs dans une thèse de pharmacie.

I. Etude de la teneur en phosphore du Rat normal au cours de la croissance et de l'état adulte.

Nous n'avons trouvé, dans la littérature, que peu de données relatives à la teneur en phosphore totale des Rats, tant en croissance, qu'à l'état adulte.

Javillier et Crémieu (103) ont publié quelques données sur le phosphore total de quelques animaux entiers, en particulier, des Invertébrés et de la Souris. Javillier, Allaire et Rousseau (104) ont étudié, en outre, la composition en phosphore de la Souris en croissance. Voici quels sont leurs résultats :

<i>Age des animaux</i>	<i>Phosphore % en gr. de matière fraîche</i>	<i>Phosphore % en gr. de matière sèche</i>
Nouveau-nés	0,319	1,525
7 jours	0,358	1,453
14 »	0,448	1,715
21 »	0,478	1,616
30 »	0,400	1,410
40 »	0,413	1,458

Mac Cann et Barnett (76) ont calculé cette valeur, mais, par une technique bien différente de la nôtre, car ces auteurs tenaient à connaître en même temps que le phosphore total des animaux entiers, celui du squelette. Après avoir enlevé le tube digestif, depuis l'œsophage jusqu'au rectum, considérant que la teneur en phosphore de ces organes était minime, ces auteurs ont fait bouillir le reste de l'animal dans de l'eau distillée, afin de pouvoir disséquer le squelette. Les différents os étaient réunis et calcinés dans un creuset en platine; les cendres obtenues étaient dissoutes dans l'acide chlorhydrique concentré. Dans le liquide dilué, on dosait le phosphore par la méthode de Neumann.

D'autre part, les parties molles et l'eau distillée ayant servi à la cuisson de l'animal étaient évaporées jusqu'à siccité et minéralisées par voie sèche; sur le résidu, on dosait le phosphore. La teneur en phosphore totale représentée par celle obtenue dans le squelette, augmentée de celle des parties molles, était ensuite rapportée au poids de l'animal vivant.

Les données obtenues par ces auteurs, en suivant cette technique, sont de 0,55 % en moyenne, pour des animaux normaux pesant de 70 à 80 grammes.

Leulier et Beruard (105), par une technique de minéralisation qui se rapproche de la nôtre (minéralisation par voie azoto-sulfurique), mais en dosant le phosphore par la méthode de Briggs, modifiée par Robison et Martland, trouvent 0,43 % pour le Rat en croissance pesant de 10 à 40 grammes, mais 0,27 % en moyenne chez les Rats nouveau-nés, alors que nous avons trouvé 0,37 %.

Ces diverses données sont insuffisantes pour qu'il soit possible de les mettre en parallèle avec l'étude du squelette proprement dit. Il nous a semblé, par ailleurs, qu'il serait utile de reprendre cette étude sur les mêmes animaux que ceux utilisés au cours de nos recherches. Aussi, avons-nous établi, de façon systématique, la teneur en phosphore total de presque tous les animaux dont nous avons étudié l'ossification dans les deux premières parties de ce travail.

Nous allons, dans ce premier chapitre, examiner les résultats obtenus sur les animaux normaux.

A. — TECHNIQUE

La technique poursuivie pour l'étude du phosphore total a été la même dans toutes les expériences. Le phosphore a été dosé par la méthode de Neumann sur le produit de la minéralisation par voie humide de l'animal, après prélèvement des différents os.

Les dosages du phosphore total chez les Rats nouveau-nés (jusqu'à 15 jours d'existence) et ceux du phosphore des os ont été effectués sur des animaux différents. La destruction des Rats adultes et préadultes a offert quelques difficultés, étant donnée la quantité parfois considérable (jusqu'à 220 grammes) de matière organique, en présence de laquelle nous nous trouvions.

Les Rats pesés, asphyxiés, après prélèvement des os, étaient mis à macérer dans un bécher en présence d'acide sulfurique concentré pendant quelques jours, puis introduits dans un ballon de kjeldhal, d'une con-

tenance de 1 litre, avec quelques micromesures du mélange catalyseur, sulfate de cuivre - sulfate de potasse. La cuisson s'effectuait sous une hotte fermée ; pendant les huit à dix premières heures, et malgré un feu très modéré, une surveillance constante était de rigueur. la masse ayant continuellement tendance à mousser et à déborder du ballon. La formation de mousse était combattue par addition d'alcool à 95°.

La minéralisation se poursuivait ensuite pendant trente ou trente-six heures environ, temps au bout duquel le liquide, après refroidissement, devenait presque incolore. La solution ainsi obtenue était portée à un volume connu (500 ou 1000 cm³, suivant le cas).

B. — RESULTATS EXPÉRIMENTAUX

Les différentes valeurs relatives à la teneur en phosphore des organismes entiers, au cours de la croissance et à l'état adulte, sont réunies dans le tableau XLIV.

L'ensemble de ces données nous a permis de construire la courbe de la figure X.

Nous constatons, au cours des premiers jours du développement (vers le quatrième jour environ, quand le poids des animaux atteint 8 grammes), une diminution du taux de phosphore. Cette diminution est surtout sensible quand on rapporte le phosphore au poids sec des animaux (1).

(1) On trouvera les détails relatifs à ces données dans deux notes publiées à la Société de Biologie, en collaboration avec A. Roche. (106).

TABLEAU XLIV

Phosphore total chez le Rat normal.

<i>Rats</i> N°	<i>Poids</i> (gr.)	<i>Phosphore</i>		<i>Rats</i> N°	<i>Poids</i> (gr.)	<i>Phosphore</i>	
		(mgr.)	(%)			(mgr.)	(%)
11 N	3,87	17,75	0,46	29 N	10,4	28,12	0,46
10 N	4,29	16,87	0,39	26 N	10,4	47,00	0,39
13 N	4,85	16,75	0,34	34 N	10,8	40,62	0,45
2 N	4,87	16,5	0,34	27 N	11,2	50,50	0,36
1 N	5,07	17,37	0,34	42 N	11,7	42,5	0,44
12 N	5,24	18,25	0,41	47 N	21,2	94,0	0,49
33 N	5,51	22,52	0,33	7 N	41,3	203,5	0,54
28 N	5,21	17,62	0,36	52 N	52,5	285,5	0,53
6 N	5,61	20,25	0,35	53 N	62,5	334,0	0,47
14 N	5,92	20,87	0,39	54 N	72	337,1	0,56
5 N	6,10	23,75	0,36	55 N	82	462,2	0,65
17 N	6,16	22,37	0,33	48 N	90	592,7	0,60
37 N	6,29	22,62	0,39	50 N	95	577,9	0,60
16 N	6,50	24,75	0,36	49 N	102	611,2	0,64
39 N	7,51	27,25	0,41	36 N	106	574,1	0,54
40 N	7,63	31,37	0,38	45 N	110	585,2	0,54
18 N	7,70	30,50	0,39	35 N	115	607,8	0,54
21 N	8,05	31,75	0,37	76 N	124	792,1	0,63
19 N	8,20	30,37	0,45	51 N	135	850,0	0,63
24 N	9,00	40,62	0,37	57 N	153	1155,0	0,75
28 N	9,61	36,00	0,46	56 N	172	1404,0	0,81
25 N	9,87	45,50	0,35	58 N	194	1417,0	0,74
32 N	10,07	36,62	0,26	9 N	222	1443,0	0,63

Le taux de phosphore varie de 0,38-0,30, au moment de la naissance, à 0,53, taux atteint rapidement chez l'animal pesant de 50 à 70 grammes et 0,60 % chez ceux pesant 90 grammes.

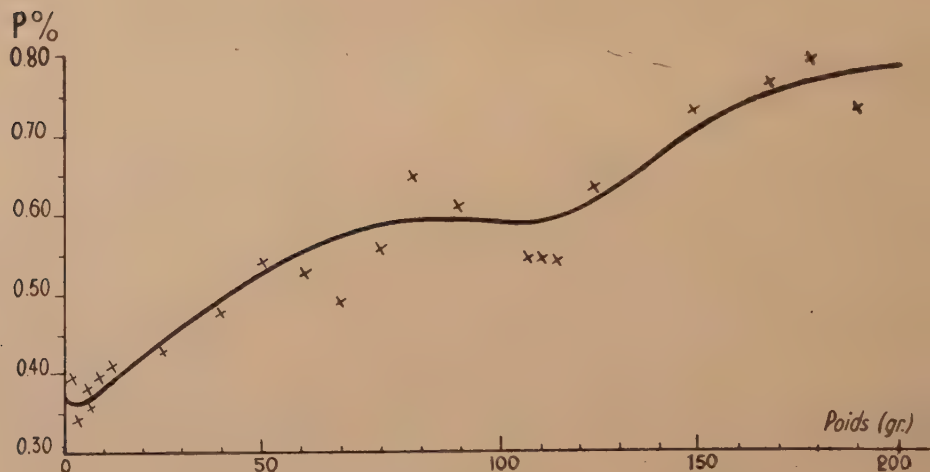


FIG. X. — Variations de la teneur en phosphore total du Rat normal en fonction du poids.

Chez les Rats préadultes pesant de 100 à 110 gr., la teneur en phosphore subit une légère inflexion : elle est de 0,54 ; elle croît rapidement chez l'animal adulte pour se stabiliser entre 0,64 et 0,80 %. La courbe du phosphore total, chez le Rat normal, en fonction du poids, n'est donc pas une droite, comme l'ont prétendu certains auteurs.

C. — DISCUSSION DES RÉSULTATS

Il suffit de comparer les résultats réunis dans ce chapitre et ceux rapportés dans la première partie de nos recherches, pour constater leur parallélisme. Les courbes IV et IX ont, en effet, la même allure, soit que l'on étudie le phosphore osseux, soit que l'on étudie le phosphore total ; on observe, en effet :

1° Un minimum de la courbe correspondant au premier temps du développement de l'animal, expression probable, avons-nous dit, de remaniements osseux au cours desquels les phénomènes d'ostéogénèse sont débordés par les phénomènes d'ostéolyse.

2° Une ascension lente de la courbe, suivie d'un palier traduisant l'élaboration du tissu osseux fondamental.

3° A partir du moment où l'animal passe du stade préadulte au stade adulte, une ascension rapide de la courbe traduisant la formation de réserves minérales.

Nous avons rapporté les expériences de J. Roche et A. Léandri (42) sur la phosphatase des os qui viennent à l'appui de cette manière de voir. Nous citerons de même celles de J. Stearms et E. Warweg (107) (chez l'enfant), qui montrent que les teneurs de phosphore et de phosphatase dans le sang croissent très rapidement pendant les premiers mois de l'existence chez l'enfant ; puis, tandis que le taux de phosphore demeure constant, celui de la phosphatase décroît rapidement

d'abord, puis d'une façon moins brusque, mais toujours régulière.

Les courbes du phosphore total et du phosphore des os se superposent tout comme celles des phosphatases osseuses et sanguines.

Ne peut-on voir, dans ces deux phénomènes, une relation de cause à effet ? N'est-ce pas grâce à la présence et à l'activité de l'enzyme, que l'organisme peut, au cours de la croissance, utiliser le phosphore ingéré par la ration et en constituer le tissu osseux fondamental. La teneur en phosphatase semble intimement liée à l'idée de croissance.

Par la suite, lorsque l'animal a atteint la taille maximum, la fixation du phosphore qui paraît être du phosphore de réserve revêt alors le caractère de simple dépôt, et ne nécessite plus l'intervention de l'enzyme, dont l'activité et le taux diminuent.

Dans ces conditions, l'hypothèse que nous avons envisagée dans notre introduction, nous paraît des plus plausibles. Il peut coexister au niveau du squelette un complexe minéral stable, du type de l'apatite et répondant aux formules établies par Gassmann, Morgulis ou Klement. La présence de ce complexe n'infirme pas les conclusions de Shear et Kramer, Brown, Mareck, etc. : la présence de réserves minérales *indépendantes du tissu osseux fondamental* et facilement mobilisables déterminant, au cours de l'âge adulte, des modifications de la composition chimique du squelette.

II. Etude de la teneur en phosphore du Rat au cours des différentes carences.

Nous avons vu que les différents régimes sont susceptibles de faire varier la composition chimique des os en provoquant, soit la désintégration du tissu osseux fondamental, soit celle des réserves minérales du squelette. Nous allons étudier, au cours de ce chapitre, quelle est la répercussion de ces différentes lésions sur la teneur en phosphore de l'organisme entier. Pour cela, nous allons examiner la teneur en phosphore des organismes d'animaux soumis :

soit à un régime déséquilibré en sels, avec ou sans vitamine D,

soit à un régime déséquilibré en azote avec ou sans phosphore.

**A. — PHOSPHORE TOTAL CHEZ LE RAT
SOUMIS A UN REGIME DESEQUILIBRE
EN SELS ET AVITAMINE**

De même que pour l'étude de l'os, nous poursuivrons nos recherches :

d'une part, chez les animaux en croissance,

d'autre part, chez les animaux adultes.

I. — ANIMAUX EN CROISSANCE.

Nous avons réuni nos différentes données sur le tableau XLV.

TABEAU XLV

*Etude du phosphore total
chez les animaux recevant une ration rachitigène
ou une ration standard.*

Rats recevant une nourriture standard			Jours d'expér.	Rats recevant un régime rachitigène		
Rats N°	Phosphore total			Rats N°	Phosphore total	
	(gr.)	(%)			(gr.)	(%)
52 N	0,285	0,54	9	R 81	0,280	0,52
53 N	0,334	0,53	12	R 76	0,242	0,52
55 N	0,427	0,56	25	R 85	0,430	0,58
48 N	0,592	0,65	35	R 82	0,533	0,57
				R 88	0,468	0,56
51 N	0,850	0,63	53	R 84	0,745	0,60

L'examen de ce tableau montre évidemment des écarts entre la teneur en phosphore des animaux nourris au régime rachitigène et celle d'animaux normaux. Ces écarts peuvent se systématiser de la façon suivante:

a) Ceux que l'on observe chez les animaux dont les lésions rachitiques sont en pleine évolution, traduisent le fait bien connu que, dans le rachitisme la rétention du phosphore est diminuée. Nous avons vu, en effet, que les travaux de Shabad, Mac Clendon et Bauguess, Karelitz et Shohl, Mouriquand, Leulier et leurs élèves, plus récemment ceux de A. Roche avaient mis en évidence chez l'animal rachitique, des pertes fécales et urinaires en phosphore importantes, cette débâcle phosphorée apparaissant chez l'animal jeune, dès la mise au régime et peut précéder l'apparition des lésions et cesser avant la guérison.

b) Ceux que l'on observe chez les animaux en voie de guérison spontanée, sont dûs — comme l'examen des quantités totales de phosphore le montre — à ce que ces animaux ne peuvent fixer le phosphore que dans la mesure où ils en reçoivent. Chez eux, le taux de cet élément croît progressivement avec un rythme légèrement inférieur, mais aussi régulier que celui que l'on observe chez les animaux normaux. Confirmant ce que nous avons vu au cours de l'étude des os, nous pouvons dire que tout se passe, comme si les animaux pouvaient se suffire avec la quantité de phosphore contenue dans le régime, pour constituer ce que nous avons appelé : le phosphore du tissu osseux fondamental, mais étaient incapables, avec de telles quantités, d'organiser le

« phosphore de réserve » mobilisable par l'organisme, en vue de ses besoins.

Quel que soit le sens que nous donnions à ces écarts nous sommes obligés de constater qu'ils sont minimes (4 à 5 %), comparativement à ceux que nous avons observé au niveau des os, lesquels atteignent de 18 à 20 %. L'étude de la teneur en phosphore du muscle des différents animaux, nous a montré, par ailleurs, (108) une augmentation très sensible 30 % parfois de la teneur en phosphore du muscle de Rats nourris au régime R L, par rapport à celle d'animaux normaux.

Cette augmentation est particulièrement nette chez les animaux qui sont en voie de guérison spontanée (à partir du vingtième jour d'expérience). Quoique moins systématique, elle s'observe également chez les animaux dont les lésions, radiographiquement, paraissent en évolution.

Nos résultats confirment ceux obtenus par Mac Cann et Barnett (76) et, plus récemment, par Cole (109).

Ils traduisent le rôle joué par le muscle au cours de carence en phosphore, en apportant dans la régulation du métabolisme minéral, ce que le squelette constitué d'une façon anormale ne peut plus apporter. Les animaux semblent « réagir » au régime en accumulant, au niveau de leurs muscles, tout le phosphore ingéré qu'ils ne peuvent plus fixer dans leurs os malades, et ce n'est que lorsque les réserves en phosphore dans les tissus mous sont suffisantes, que la guérison spontanée du rachitisme devient possible.

II. — ANIMAUX PRÉADULTES ET ADULTES.

Nous rappelons que ces animaux ont maigri au cours de l'expérience. Cette fonte tissulaire, qui se fait non seulement aux dépens des composés ternaires, mais également des protéines du muscle, réduit, de ce fait, le rôle joué par celui-ci dans le métabolisme minéral ; aussi, devons-nous nous attendre à un parallélisme plus étroit entre la composition en phosphore de l'organisme et celle des os.

Nous avons consigné les différents résultats dans le tableau XLVI et nous les avons comparés à ceux obtenus chez des Rats normaux, pesant le même poids au début de l'expérience, que les Rats au régime déséquilibré, et à des Rats normaux pris à la fin de l'expérience.

Le taux de phosphore des Rats carencés a été, en outre, rapporté au poids final et au poids initial des animaux, ce qui nous a permis d'évaluer la déminéralisation.

Les quantités de phosphore total des animaux carencés varient à peine de 12 % autour d'une valeur moyenne de 680 mgr., et cela malgré des durées d'expérience très différentes poursuivies sur des animaux de poids très écartés. Cette valeur est voisine de celle que l'on obtient chez les rats normaux préadultes (V. tableau XLIV).

Le taux de phosphore, en fin d'expérience, est augmenté. Cette augmentation est consécutive à l'amaigrissement que l'on observe en cours d'expérience.

Le taux de phosphore rapporté au poids initial des

animaux et comparé à celui des animaux normaux nous montre que, à l'exception de 27 R, les pertes de phosphore sont nulles ou insignifiantes, dans le cas des animaux préadultes chez lesquels c'est plus un défaut de la calcification (fixation de phosphore), que la décalcification (perte de phosphore), que l'on observe.

Ce dernier processus, au contraire, est très net chez l'animal adulte.

TABLEAU XLVI

Phosphore total d'animaux préadultes et adultes normaux ou soumis à un régime déséquilibré en sels et avitaminé.

Rats normaux			Rats carencés			
Rats N°	Phosphore		Rats N°	Phosphore		
	(gr.)	(%)		(gr.)	% du poids final	% du poids initial
{ 76 N*	0,792	0,63	{ 27 R	0,655	0,90	0,64
{ 51 N**	0,850	0,63	{ 28 R	0,777	0,82	0,56
{ 45 N*	0,585	0,54	{ 23 R	0,597	0,96	0,54
{ 60 N**	1,236	0,76				
{ 57 N*	1,155	0,75	{ 26 R	0,696	0,79	0,51
{ 56 N**	1,404	0,81				

Le phosphore total des animaux adultes ou préadultes, soumis à un régime déséquilibré en sels et avitaminé, suit les mêmes fluctuations que le phosphore des

(*) Rats normaux pris au début de l'expérience.

(**) Rats normaux pris à la fin de l'expérience.

os. La déminéralisation observée en étudiant le squelette, se confirme. Elle est d'autant plus intense que l'animal est plus âgé.

Puisque les quantités de phosphore total sont sensiblement identiques chez tous les animaux carencés en fin d'expérience, ne peut-on dire que tous ces sujets, dont le squelette est déjà constitué, ne peuvent perdre que leur phosphore de réserve, dont le taux varie avec l'âge, mais que le phosphore fondamental n'est presque pas touché ?

N'est-ce pas mettre en évidence, une fois de plus, les deux processus différents de l'organisation du squelette : ossification proprement dite et dépôts salins ? Au cours de la première, le complexe phospho-calcique serait un composé stable, tandis que des mélanges de composition variable se déposeraient par le second processus.

B. — PHOSPHORE TOTAL CHEZ LE RAT RECEVANT UN REGIME DESEQUILIBRE EN SELS ET DE LA VITAMINE D

On trouvera dans ce paragraphe l'étude de la teneur en phosphore total des animaux dont les os ont été étudiés au paragraphe iv de la II^e partie de ce travail.

I. — ANIMAUX EN CROISSANCE.

Nous avons étudié deux animaux nourris au régime Randoïn-Lecoq, et qui, au moment où le rachitisme est

en pleine évolution, ont reçu de l'huile de foie de morue. Cette étude a été faite comparativement à des Rats du chenil, ou à des Rats qui ont continué à être nourris au régime RL, seul, ou équilibré en sels.

L'ensemble des résultats expérimentaux se trouve réuni dans le tableau XLVII.

TABLEAU XLVII

*Phosphore total d'animaux recevant,
soit un régime standard,
soit le régime RL, ou ce même régime complété.*

<i>Durée de l'expér. jours</i>	<i>Rats N°</i>	<i>Régime</i>	<i>Phosphore</i>	
			<i>(gr.)</i>	<i>(%)</i>
19	53 N	Standard	0,334	0,53
	76 R*	RL	0,242	0,52
	89 R	RL + 8 j. HFM	0,425	0,63
23	55 N	Standard	0,427	0,56
	85 R**	RL	0,430	0,58
	87 N	RL + 14 j. HFM	0,462	0,62

L'examen de ce tableau paraît indiquer une augmentation de 15 à 20 % du taux du phosphore total (sous l'influence de la vitamine D).

Ces résultats sont parallèles à ceux que nous avons obtenus en étudiant le P/N de l'os. Il nous semble que

(*) Rachitisme en pleine évolution.

(**) Guérison spontanée apparente.

l'augmentation du taux de phosphore intéresse le phosphore de réserve et non le tissu osseux fondamental.

II. — ANIMAUX ADULTES ET PRÉADULTES.

Nous avons réuni dans le tableau XLVIII les quantités et le taux de phosphore des animaux en expérience, en même temps que celles d'animaux normaux de même poids initial que les animaux carencés, pris au début et en fin d'expérience.

TABLEAU XLVIII

*Phosphore total d'animaux normaux
ou recevant un régime déséquilibré en sels
et de la vitamine D.*

Rats normaux			Rats carencés				
Rats N°	Phosphore		Rats N°	Phosphore			
	(gr.)	(%)		(gr.)	% du poids final	% du poids initial	
56 N*	1,404	0,75	}	63 R	1,533	1,22	0,70
58 N**	1,471	0,81		36 R	1,095	0,99	0,74
35 N*	0,607	0,54	}	60 R	0,940	1,04	0,82
51 N**	0,850	0,63					
49 N*	0,611	0,60	}	61 R	0,902	1,10	0,97
51 N**	0,850	0,63					
50 N*	0,578	0,60	}	33 R	0,575	0,87	0,63
76 N**	0,792	0,63					
45 N*	0,585	0,54		37 R	0,759	0,82	0,69

(*) Rats normaux pris au début de l'expérience.

(**) Rats normaux pris à la fin de l'expérience.

L'examen de ce tableau montre qu'au cours de l'expérience, grâce à la vitamine D et malgré un fort déséquilibre salin du régime, les animaux ont continué à organiser les dépôts minéraux. Ces résultats sont très sensibles pour les animaux préadultes (60 R et 61 R). Nous rappelons que 33 R, qui paraît ne pas participer à ce fait, n'a reçu de la vitamine D que pendant 15 jours sur les 30 jours qu'a duré l'expérience.

L'augmentation du taux final de phosphore est dû, ici également, à l'amaigrissement provoqué par le régime.

Nos résultats, ici, sont parallèles à ceux que nous avons obtenus dans l'étude de l'ossification et les confirment : si un fort déséquilibre salin du régime provoque des lésions osseuses et une fonte tissulaire, en même temps qu'une déminéralisation, l'adjonction de vitamine D, sans action sur les dystrophies du squelette ou l'amaigrissement, permet l'utilisation du phosphore ingéré et sa précipitation au niveau des os.

C. — PHOSPHORE TOTAL CHEZ LE RAT RECEVANT UN RÉGIME DESEQUILIBRE EN AZOTE

Nous rappelons qu'à la suite de l'étude sur l'ossification des animaux soumis à l'inanition protéique, nous avons observé une diminution du phosphore osseux sans apparition de lésions à la coupe histo-macroscopique.

Les variations de la teneur en phosphore total de ces mêmes animaux réunies dans le tableau XLIX nous permettent de préciser cette conclusion.

TABLEAU XLIX

*Phosphore total d'animaux normaux
ou soumis à l'inanition protéique.*

<i>Animaux normaux</i>			<i>Animaux à l'inanition protéique</i>			
<i>Rats N^o</i>	<i>Phosphore</i>		<i>Rats N^o</i>	<i>Phosphore</i>		
	<i>(gr.)</i>	<i>(%)</i>		<i>(gr.)</i>	<i>% du poids final</i>	<i>% du poids. initial</i>
60 N	1,236	0,76	47 IP	0,966	1,14	0,63
			48 IP	1,029	1,12	0,67
59 N	1,150	0,65	51 IP	0,940	1,13	0,59
			43 IP	0,945	1,05	0,59
			50 IP	1,157	1,13	0,71
			41 IP	0,925	0,99	0,51
56 N	1,404	0,81	46 IP	0,948	1,14	0,55
			42 IP	0,853	0,99	0,49
			49 IP	1,020	1,52	0,57
58 N	1,417	0,74	44 IP	1,050	1,16	0,50
			45 IP	1,135	1,11	0,50
Moyen.	1,27	0,71		0,99	1,14	0,57

Les animaux ayant atteint, à peu de chose près, leur poids maximum, nous ne comparerons leur teneur en phosphore qu'à celle des animaux normaux de même poids qu'eux au début de l'expérience.

L'examen de ce tableau montre que, chez les animaux à l'inanition protéique, le phosphore total est en moyenne de 0 gr. 99; son taux moyen rapporté au poids frais des animaux est de 1,14 %, avec des valeurs extrêmes de 0,99 à 1,52 % ; cette dernière valeur est d'ailleurs celle obtenue pour le Rat 49 IP, qui a accouché de cinq petits, ayant une teneur en phosphore normale. A cette exception près, les écarts individuels atteignent rarement 10 %, autour de 1,10 et sont du même ordre de grandeur que ceux observés chez les Rats normaux. phore des hexose-phosphates, etc...

Si on rapporte le taux de phosphore au poids initial de l'animal, on obtient une moyenne de 0,57, avec des valeurs extrêmes comprises entre 0,71 et 0,49.

L'augmentation du taux de phosphore à la mort des animaux est le fait de leur amaigrissement au cours de l'expérience.

Par contre, la diminution de la valeur absolue du phosphore, qui atteint 25 % par rapport au taux des animaux normaux, et qui entraîne une diminution semblable du taux du phosphore, par rapport au poids initial des animaux carencés, révèle une perte sensible de phosphore.

Cette perte de phosphore se fait, comme nous l'avons vu, aux dépens du squelette et, également, à un taux moindre évidemment, aux dépens du muscle. En effet, A. Roche (65) a montré, en étudiant le phosphore du muscle de Rats au jeûne protéique, une diminution sensible de cet élément, diminution supportée presque exclusivement par les constituants phosphorés hydrosol-

lubles, c'est-à-dire par le phosphore minéral, le phosphore des hexose-phosphates, etc...

Cette perte en phosphore est en outre proportionnelle à la durée de l'expérience.

Ces résultats confirment donc ceux obtenus par nous au cours de l'étude du squelette. En plus de la disparition des réserves ternaires et d'une perte azotée importante, les animaux soumis à l'inanition protéique subissent, en outre, une mobilisation de leurs réserves minérales.

Toutefois, si l'on soumet un animal au régime sans azote, dans lequel le mélange salin d'Osborne a été remplacé par le mélange sans phosphore de Pappenheimer, on obtient les quantités de phosphore suivantes :

Phosphore total (gr.)	0,894
Phosphore rapporté au poids final...	1,12 %
Phosphore rapporté au poids initial..	0,62 %

Cet animal, dont la perte de poids est du même ordre de grandeur que celle observée chez les inanitiés protéiques, a un taux de phosphore, par rapport à son poids final, voisin de la valeur obtenue chez ces derniers ; tandis que le taux rapporté au poids initial est supérieur. Ce fait paraît indiquer, dans la mesure où un seul examen nous permet de conclure, que cet animal a perdu moins de phosphore que ceux de la série précédente, bien que son régime soit privé de cet élément.

Nous confirmons donc les résultats observés dans l'étude des os : l'alcalinité du régime aurait suffi à cor-

riger l'acidose déclanchée par l'inanition protéique, et a rendu, de ce fait, inutile l'intervention des phosphates exogènes ou endogènes pour la régulation de l'équilibre acide-base. On voit ici encore le rôle joué par le phosphore osseux lorsque le besoin du métabolisme s'en fait sentir.

En résumé, l'étude du phosphore total de l'organisme, au cours des différentes carences, nous a permis comme nous l'avions pensé : d'évaluer la déminéralisation provoquée par les différents régimes. Elle confirme les résultats obtenus au cours des deux premières parties de ce travail et montre, en particulier, que :

1° La déminéralisation, d'autant plus intense que les animaux sont plus âgés, semblerait se faire aux dépens du phosphore de réserve ; le phosphore fondamental ne paraissant subir que de faibles variations.

2° Chez les animaux qui croissent normalement, en dépit du déséquilibre du régime (animaux soumis au régime RL), une partie du phosphore est fixée par le muscle, qui joue, dès lors, un rôle actif dans le métabolisme minéral.

3° La vitamine D empêche l'intervention de phosphates osseux dans la régulation de ce métabolisme et favorise leur précipitation au niveau du squelette.

Résumé et Conclusions

L'objet de ce travail a été d'apporter quelques données sur les processus de l'ossification et sur l'existence probable, à côté d'un tissu osseux fondamental, de dépôts salins au niveau du squelette, ayant le caractère de réserves (hypothèse de Van Slyke et Peters).

A. — RÉSUMÉ

L'étude parallèle de la formation des dépôts salins et du développement de la matrice protéique de l'os, nous a paru devoir apporter à ce problème des renseignements utiles. Aussi, avons-nous suivi l'évolution de ces deux parties du tissu de l'os par l'étude de l'azote, du phosphore et des variations du rapport Phosphore/Azote (P/N) de l'os.

Ce travail comporte deux parties principales :

I. Une étude de la composition chimique de l'os normal au cours des différentes étapes de l'ossification.

II. Une étude des variations de la composition chimique de l'os au cours de carences diverses.

Enfin, nous avons complété chacune de ces deux séries de recherches par une étude parallèle de la teneur en phosphore total des organismes.

I

Etant donné le lien qui, au point de vue morphologique et physiologique, existe entre le stroma protéique de l'os et son complexe minéral, l'étude chimique du rapport phosphore/azote doit être susceptible de nous renseigner sur les différentes étapes de l'ossification.

L'étude simultanée et corrélative du phosphore et de l'azote des os, nous a montré essentiellement que :

1. — La teneur en azote, exprimée en pour cent du poids sec de l'os, décroît lentement depuis la naissance, (8 %) jusqu'à l'état préadulte (7 %), puis, plus rapidement, pour se stabiliser enfin chez l'adulte (4 %) quand celui-ci a atteint son poids maximum.

2. — La teneur en phosphore des os exprimée en pour cent du poids sec de l'os, dont le taux est de 6 % en moyenne chez les jeunes Rats, diminue au cours des premières semaines du développement (4,5 %), augmente ensuite lentement jusqu'au stade préadulte (8 à 9 %), puis, très rapidement, pour se stabiliser chez l'adulte autour de 11 %.

3. — Le phosphore total des animaux suit les variations parallèles à celles du phosphore des os. Voisin de 0,40 %, son taux diminue au cours des premiers jours d'existence (0,36 %), augmente jusqu'à 0,60 %. Puis après une légère et rapide diminution (0,54 %) augmente à nouveau rapidement et se stabilise au voisinage de 0,65 à 0,75 %, tandis que l'animal passe du stade préadulte au stade adulte.

4. — Le rapport P/N des os subit les mêmes fluctuations que le phosphore.

Ses variations coïncident avec l'intensité des phénomènes d'ostéolyse et d'ostéogénèse, qui président à l'organisation et à la croissance du squelette.

Ces différents résultats expérimentaux expriment le fait que l'évolution du squelette s'opère en deux temps :

Dans un premier temps, jusqu'à l'âge préadulte auquel le squelette a presque atteint sa taille maximum, l'os croît en développant sa matrice protéique, qui s'imprègne progressivement de sels phospho-calciques (organisation du tissu osseux fondamental).

Dans un second temps, l'animal passant du stade préadulte au stade adulte, le squelette s'enrichit en sels, alors que le développement de sa partie protéique est très fortement ralenti, sinon arrêté (organisation des réserves minérales).

L'hypothèse d'un tissu osseux fondamental, et des réserves minérales indépendantes semble étayée par les résultats de l'étude des variations du taux et de l'activité des phosphatases de l'os (J. Roche et A. Léandri) et du sang (Stearns et Warweg).

Cette conception est en accord avec certains phénomènes d'ordre morphologique ou biologique. Elle explique, en particulier, la plus ou moins grande sensibilité des animaux, suivant leur âge, aux différents facteurs alimentaires susceptibles de provoquer des dystrophies osseuses.

II

Les principaux facteurs susceptibles de provoquer des modifications du squelette (désintégration du tissu osseux fondamental ou des réserves) sont : 1°) un trouble dans le rapport entre le calcium et le phosphore alimentaires, et un besoin quantitatif de l'un et de l'autre de ces deux éléments ; 2°) une carence en vitamine D ; 3°) une ingestion ou une production de substances acidogènes. Nous avons étudié l'action de ces différents facteurs sur la composition chimique du squelette.

A) Tout régime déséquilibré en sels et avitaminé détermine des lésions qui ont un caractère différent, suivant que l'on s'adresse à des sujets en croissance ou à des animaux adultes.

1. — Les Rats jeunes présentent des lésions ; mais si le déséquilibre salin n'est pas très accentué, les animaux croissent normalement et leurs lésions guérissent spontanément. La guérison spontanée peut être empêchée par addition au régime d'une substance acidogène, telle que le glycérophosphate de soude, par exemple.

La gravité des lésions, estimée radiographiquement, coïncide avec une augmentation de la teneur en eau et en azote, et une diminution du phosphore et du P/N de l'os.

La guérison spontanée coïncide avec un retour à la normale des teneurs en eau et en azote et une augmentation du phosphore et du rapport P/N ; toutefois, ces deux dernières données conservent un taux inférieur à leur taux normal.

Le phosphore total ne subit que de faibles variations comparativement à celui des os.

L'animal met en réserve dans ses parties molles (muscles) tout le phosphore ingéré qu'il ne peut plus fixer dans ses os malades.

Il est probable que la guérison spontanée du rachitisme ne devient possible que lorsque les réserves en phosphore dans les tissus mous sont devenues suffisantes.

2. — Les Rats préadultes ou adultes, soumis à un régime fortement déséquilibré en sels et avitaminé présentent les phénomènes suivants :

Le taux du phosphore et le P/N des os diminuent. Cette diminution précède l'apparition des lésions qui coïncident avec une augmentation de la teneur en eau et en azote. La déminéralisation est d'autant plus intense que l'animal est plus âgé. Le taux de phosphore étudié, soit au niveau des os, soit dans l'organisme entier, prend, en fin d'expérience, une valeur voisine quel que soit le poids initial des animaux.

B) Un régime déséquilibré en sels et complété par de la vitamine D, provoque des modifications de la composition chimique des os, variable suivant le degré de son déséquilibre salin et suivant l'âge des animaux.

I. — Chez des animaux en croissance, ayant des lésions rachitiques en pleine évolution, ces lésions guérissent. En même temps, on observe :

Un retour à la normale de la teneur en eau et en azote, tandis que le taux en phosphore et le rapport

P/N sont supérieurs à la normale. Il en est de même pour le phosphore total de l'organisme.

La vitamine D n'intervient que pour *accélérer la guérison* qui peut, néanmoins, s'effectuer sans elle. Elle facilite, en outre, la formation de dépôts salins.

2. — Des animaux adultes et préadultes qui reçoivent, en même temps qu'un régime fortement déséquilibré en sels, de la vitamine D, présentent :

— Des lésions au niveau de l'ancien cartilage de conjugaison, invisible sur la radiographie totale de l'animal, visible sur la radiographie des os disséqués et à l'examen histo-macroscopique.

— Une teneur en eau et en azote des os, supérieure à la normale.

— Une teneur en phosphore des os et de l'animal total, augmentée chez les animaux jeunes, légèrement inférieure à la normale chez les animaux plus âgés. Ce fait implique que les animaux, malgré le déséquilibre salin du régime, ont à peu près organisé ou conservé leurs réserves minérales.

La vitamine D n'a donc pas empêché l'apparition de lésions rachitiques, bien que favorisant la formation de dépôts minéraux.

C) Des animaux nourris au régime sans azote, mais recevant un régime équilibré par ailleurs, ont :

— Des os normaux à l'examen histo-macroscopique ;

— Une teneur en eau des os légèrement augmentée ;

— Une teneur en azote légèrement abaissée ;

— Une teneur en phosphore des os et de l'organisme entier inférieure à la normale et d'autant plus basse

que le poids initial de l'animal est plus élevé, ou la durée de l'expérience plus longue.

L'inanition protéique détermine une déminéralisation due à l'état d'acidose provoquée par le régime.

Si on prive ces animaux, à la fois d'azote et de phosphore, les lésions apparaissent au niveau du cartilage, mais la teneur en phosphore est normale et supérieure à celle de la plupart des animaux de la série précédente. L'acidose paraît être corrigée ici par l'alcalinité du régime sans phosphore.

B. — CONCLUSIONS

L'ensemble de nos différents résultats nous permet de conclure sur les trois points suivants :

1. — Sur l'existence probable, à l'état normal, d'un tissu osseux fondamental et de réserves minérales ;
2. — Sur l'indépendance relative du tissu osseux fondamental et de ses réserves minérales ;
3. — Sur l'action de la vitamine D, qui intervient principalement sur les réserves et accessoirement seulement sur le tissu osseux fondamental.

1) Il existe, semble-t-il, à l'état normal, un tissu osseux fondamental et des réserves minérales distinctes.

Ce tissu osseux fondamental s'organise, au cours de la croissance des animaux ; il est le même chez tous les sujets qui ont atteint leur taille maximum et n'est susceptible que de faibles variations dans sa composition chimique. Les réserves minérales s'organisent norma-

lement chez les animaux adultes seulement. Elles sont facilement mobilisables et paraissent jouer un rôle essentiel dans la régulation de l'équilibre acide-base.

2) *Le tissu osseux fondamental et les réserves minérales paraissent indépendants l'un de l'autre.*

Au cours de nos expériences, nous avons observé, en effet :

a) Dans certains cas (animaux jeunes nourris au régime RL pendant les 16 premiers jours de l'expérience, animaux adultes, nourris au 85+Sr ou plus Ca, morts spontanément), en même temps que la présence de lésions osseuses, une déminéralisation d'autant plus intense que l'animal est plus vieux. Dystrophies et déminéralisation vont ici de pair.

b) Dans d'autres cas (animaux à l'inanition protéique et surtout animaux au régime RL, en voie de guérison spontanée, animaux nourris pendant 8 jours au régime 85+Sr), l'absence de lésions bien qu'il y ait en même temps une déminéralisation très nette.

c) Enfin, dans certains cas (animaux au régime 85+Sr+HFM, animaux au régime sans azote et sans phosphore), des lésions osseuses assez graves, bien que la déminéralisation soit à peine sensible.

Ces considérations nous paraissent suffisamment explicites, pour montrer que les différents régimes sont susceptibles de provoquer, soit une désintégration du tissu osseux fondamental (apparition de lésions), soit une mobilisation des réserves minérales (déminéralisation proprement dite) ; ces deux phénomènes pouvant rester, nous l'avons vu, indépendants l'un de l'autre.

Les modifications de la composition chimique intéressent surtout les réserves minérales, qui ont un caractère labile très marqué.

Le phosphore du tissu osseux fondamental, de composition plus stable, ne subissant que des variations bien moindres.

3) La vitamine D agit surtout, semble-t-il, sur les réserves minérales et accessoirement sur le tissu osseux fondamental.

De jeunes Rats rachitiques guérissent spontanément, même s'ils sont carencés en facteur D, tandis que celui-ci n'empêche pas l'évolution des lésions chez les animaux adultes quand le régime est fortement déséquilibré en sels. Dans les deux cas, le facteur D semble sans action sur le tissu osseux fondamental ; on observe, soit une organisation des réserves salines, soit la conservation de celles-ci.

Par quel processus, permet-elle la fixation du phosphore ? Tant chez l'animal en croissance, que chez l'animal adulte soumis à un régime pauvre en phosphore, l'augmentation du phosphore n'est pas due à une augmentation de l'assimilation de cet élément, mais une diminution du taux de son élimination. La résorption même du phosphore, dans le tube digestif, reste fonction de la teneur relative en calcium et en phosphore, ou, à proprement parler, du rapport de ces deux éléments dans le régime ; elle serait, selon Brown et Shohl (88), indépendante du facteur D, dont l'action est de régler le métabolisme minéral dans l'organisme même.

La vitamine D interviendrait dans le maintien de l'état

ionique des humeurs, et de l'équilibre acide-base, en réglant, d'une part, la solubilisation des sels de l'os, d'autre part, en les dirigeant vers les organes, ou vers le rein, et en déposant l'excès dans le « grand réservoir minéral » qu'est le squelette.

Une partie importante des dépôts salins, ayant un caractère plus labile, leur mobilisation peut se faire sans une contribution directe du tissu osseux proprement dit ; ils possèdent donc tous les caractères propres aux réserves ; mais, dans l'ensemble, il apparaît que les modifications de la composition chimique des os, tant celles provenant du départ des réserves minérales, que celles résultant de la désintégration du tissu osseux fondamental, dépendent étroitement d'un déséquilibre acido-basique des humeurs. Rien ne s'oppose donc à ce que les différentes théories émises sur la nature du complexe phospho-calcaire des os, si divergentes à l'heure actuelle, ne finissent un jour par se rejoindre.

Vu et approuvé :

Montpellier, le 9 Juillet 1935,

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,
MARCEL GODECHOT

Vu et permis d'imprimer :

Montpellier, le 9 Juillet 1935,

LE RECTEUR,
TAILLIART.

PLANCHE I



71



79



76



72



73



85



82



88

PLANCHE II



81



83



87



89

61



63



BIBLIOGRAPHIE

- (1) FERRAND (J.) — Contribution à l'étude des substances collagènes. *Th. Pharmacie*, Lyon, Bosc et Riou, édit., 96 p.
- (2) KRAMER (B.) and HOWLAND (J.). — The inorganic composition of Bone. *Journ. of biol. Chem.* (d'après Soc. of biol. Chem.), 1927, 64, IX.
- (3) KRAMER (B.) and HOWLAND (J.). — The quantitative estimation of calcium magnesium and carbonate in bone. *Journ. of Biol. Chem.*, 1926, 68, 711-720.
- (4) MORGULIS (S.). — Studies on the chemical composition of bone ash. *Journ. of Biol. Chem.*, 1931, 93, 455-466.
- (5) HOLT (L. E.), LA MER (V. K.) and CHOWN (H. B.). — Studies of calcification. I. The solubility product of secondary and tertiary calcium phosphate under various conditions. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 64, 509-564.
- (6) HOLT (L. E.), LA MER (V. K.) and CHOWN (H. B.). — Delayed equilibrium between the calcium phosphates and its biological significance. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 64, 567-578.
- (7) SHEAR (M. J.) and KRAMER (B.). — Composition of bone. I. Analytical micromethod. *Journ. of biol. Chem.*, 1928, 79, 105-120.
- (8) SHEAR (M. J.) and KRAMER (B.). — Composition of bone. Physico-chemical mechanism. *Journ. of biol. Chem.*, 1928, 79, 125-143.

- (9) BOGERT (L. J.) and HASTINGS (A. B.). — The calcium salts of Bone. *Journ. of biol. Chem.*, 1931-1932, 94, 473-481.
- (10) GASSMAN, cité par KAY (H. D.). — The Chemistry and metabolism of the compounds of phosphorus animal. *Ann. Review of Biochemistry*. 1 vol. 193 pp. Stanford University Presse.
- (11) KLEMENT, cité par KAY (H. D.). — *Idem*.
- (12) HOPPE SEYLER, cité par BLANCHETIÈRE (A.). — Les principes immédiats des êtres vivants. IV. Les constituants minéraux. In *Traité de Physiologie* (Roger et Binet), 1932, 1, 774-779. Masson et Cie, édit.
- (13) ROBISON (R.). — The significance of phosphoric ester in metabolism. The New-York, University Presse, 1933, 104 p.
- (14) TAYLORD-SHARD, cité par KAY (H. D.). — The chemistry and metabolism of the compounds of phosphorus animal. *Review of Biochemistry*, 1 vol. 193 p., Stanford University Presse.
- (15) ROSEBERY (H.), HASTING (A.) and MORSE (J. K.). — X-Ray analysis of bone and teeth. *Journ. of biol. Chem.*, 1931, 90, 395-406.
- (16) HUGOUNENQ (L.). — Sur la fixation des bases alcalines dans le squelette minéral du fœtus pendant les cinq derniers mois de la grossesse. *C. R. Ac. Sciences*, 1900, 130, 94.
- (17) GUSMITTA (M.). — *Arch. ital. biol.*, 19, 220, 1893. Cité par Brook and Smith. *Journ. of biol. Chem.*, 1934, 104, 143-161.
- (18) HOWLAND (J.), MARIOTT (W.) and KRAMER (B.). — Studies upon inorganic composition of bones. *Journ. of biol. Chem.*, 1926, 68, 721-735.
- (19) NEAL (W. N.), PALMER (L. S.), ECKLES (C. H.) and GULLICKSON (T.). — *Agric. Res. Arch.*, 42, 115. Cités par Broocke and Smith. *Journ. of biol. Chem.*, 1934, 104, 143-161.
- (20) MAC CLURE (F. J.) and MITCHELL (H. H.). — The effect of fluorine on the calcium metabolism of albinos Rats

and the composition of the bones. *Journ. of biol. Chem.*, 1931, **90**, 297-320.

- (21) BROOKE (R. O.), SMITH (A. M.) and SMITH (P. K.). — Inorganic salts in nutrition. VII. Change in composition of bone of Rats on a diet poor in inorganic constituents. *Journ. of biol. Chem.*, 1934, **104**, 141-148.
- (22) MARECK (J.), WELLMAN (O.) und URBANYI (L.). — Chemischer aufbau der Knochensalzte bei gesunden und bei rachitischen Tieren. *Zeit. Phys. Chem.*, 1934, **226**, fasc. 1, 3-17.
- (23) POLICARD (A.). — A propos des mécanismes de la croissance osseuse. *Presse Médicale*, 12 mars 1930.
- (24) POLICARD (A.) et LERICHE (R.). — Position actuelle du problème de l'ostéogénèse (à propos de critiques récentes). *Presse Médicale*, 31 janvier 1934.
- (25) LERICHE (R.). — Recherche expérimentale sur l'ostéogénèse. *Bull. et Mém. de la Soc. Nat. de Chirurgie*, 14 nov. 1934, pp. 1184-1190.
- (26) LERICHE (R.) et LUCINESCO (E.). — De l'ostéogénèse hétérotopique. *Presse Médicale*, 26 janvier 1935.
- (27) CHARLIN (A.). — Calcification et calcémie. *Th. Méd. Lyon*. Patissier, édit., Trévoux, 236 p.
- (28) FREUDENBERG (E.) und GYÖRGY (P.), cité par ROBISON. — The significance of phosphoric ester in metabolism. *The New-York University Presse*, 1932, 104 p.
- (29) BENJAMIN (H. R.). — The nature and significance of the filtrable adsorbable calcium phosphorus complex. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, **100**, 54-57.
- (30) BENJAMIN (H. R.). — The forms of the calcium and inorganic phosphorus in animal sera : II. The nature and significance of the filtrable adsorbable calcium phosphorus complex. *Journ. of biol. Chem.*, 1931, **100**, 57-59.
- (31) DHAR (N. R.). — Occurrence and etiology of rickets. *Journ. Phys. Chem.*, 1933, **36**, 1846-1851.

- (32) GROLLMAN (A.). — The condition of the inorganic phosphorus of the blood with special reference to the calcium concentration. *Journ. biol. Chem.*, 1927, 72, 565-572.
- (33) BRULL (L.). — Signification du « seuil » des phosphates minéraux. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 4, 325-327.
- (34) BRULL (L.). — Métabolisme du calcium. Congrès de Médecine de Liège, 1930. Rapport III; 1-34.
- (35) SCHOLTZ (H.). — Ueber Anderungen des physikalischen Zustandes von anorganischen Bestandteilen des serums durch gegenseitige Beeinflussung. *Bioch. Zeits.*, 1931, 234, 135-143.
- (36) EICHHOLTZ (F.) et STARLING (H. S.). — Action of inorganic salts of secretion of isolated Kidney. *Proc. Roy. Soc. Ser.*, 1925, 93-98.
- (37) BROOKE (R. O.) and SMITH (A.). — Inorganic salts in nutrition. VI. The mineral metabolism of rats receiving a diet low in inorganic constituents. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 105-124.
- (38) DUVAL (M.) et PORTIER (P.). — La teneur en phosphore minéral du sang de quelques Invertébrés. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 99, 1831-1835.
- (39) ROGER et BINET (L.). — Traité de Physiologie normale et pathologique. Reproduction et croissance, t. XI, 383-423. Masson, édit.
- (40) ROCHE (A.) et GARCIA (I.). — Variations du rapport Phosphore/Azote de l'os au cours de la croissance chez le Rat. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 116, 1029-1032.
- (41) VAN SLYKE (D. D.) et PETERS (J. P.). — Quantitative clinical Chemistry, 1, Baillière, Tindall et Cie, édit., London, 1931, 1264 p.
- (42) ROCHE (J.) et LEANDRI (A.). — Etude quantitative de la phosphatase des os longs au cours de la croissance du Rat. *C. R. Soc. Chim. Biol.* (sous presse).
- (43) CHOSSAT. — Note sur le système osseux. *C. R. Acad. Sc.*, 1842, 14, 451-453.

- (44) FORSTER (J.). — *Zeits. Biol.*, 1876, 12, 464, cité par Labbé et Fabrykant. — « Le Phosphore ». Masson et Cie, édit., 1932, 396 p.
- (45) KORENCHEVSKY (V.). — Experimental rickets in Rats. *Brit. Med. Journ.*, 1921, 547, cité par Labbé et Fabrykant.
- (46) SHIPPLEY (P.), PARK (E.), MAC COLLUM (E.) et SIMMONDS (N.). — Studies in experimental rickets. III. A pathological condition bearing fundamental resemblances to rickets of the human being resulting from diets low in phosphorus and fat soluble A. The phosphate ion in its prevention. *Johns Hopk. Hosp. Bull.*, 1921, 32, 160.
- (47) SHERMAN (H.) and PAPPENHEIMER (A.). — A dietetic production of rickets in rats and its prevention by an inorganic salt. *Poc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1921, 18, 193.
- (48) MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — Le métabolisme et les fixateurs du calcium chez l'enfant. Congrès de Médecine de Liège, 1930, 36-91.
- (49) WEGNER (G.). — Der Einfluss des Phosphor auf den organismus. *Arch. path. anto. Physiol. Kind Med.*, 1872, 55, 11, cité par Fabrykant et Labbé.
- (50) KASSOWITZ (M.). — Die Phosphorbehandlung der Rachitis. *Zeits. Klin. Med.*, 1884, 7, 36-93.
- (51) SHOHL (A.), BROWN (H. B.), BOSC (C. S.) and SAUERWEIN (E.). — Does the ratio of calcium to phosphorus of the diet determine whether rickets is produced in the Rat. *Journ. Biol. Chem.*, 1931, 97, Proc. X.
- (52) MELLANBY. — An experimental investigation on rickets. *Lancet*, 1919, 196, 407, d'après Fabrykant et Labbé, in « Le Phosphore ».
- (53) MAC COLLUM (E. V.), SIMMONDS (N.), SHIPPLEY (P. G.) and PARK (E. A.). — Studies on experimental rickets. VIII. The production of rickets by diets low in phosphorus and fat soluble A. *Journ. biol. Chem.*, 1921, 47, 507-527.

- (54) HESS (A. F.), MAC CANN (G. F.) and PAPPENHEIMER (A. M.). — The failure of rats to develop rickets on a diet deficient in vitamin A. *Journ. Biol. Chem.*, 1921, 47, 395-409.
- (55) RONA (P.) et TAKAHASHI (D.). — Beitrag zur Frage nach dem Verhalten des Calciums im Serum. *Bioch. Zeits.*, 1913, 49, 370-382.
- (56) FREUNDENBERG et GYÖRGY, cité par SCHOEN (J.). — *Thèse méd.* Lyon, 1927. Bosc et Riou, édit., 187 p.
- (57) BLUM (L.), DELAVILLE (M.) et VAN CAULAERT. — Sur la pathogénie du rachitisme. Rapport entre ces phénomènes d'ossification et de décalcification et l'état physico-chimique du sang. *Presse Médicale*, 17 juin 1925.
- (58) DENIS (W.) et MINOT (A. S.). — *Arch. Intern. Med.*, 1920, 26, 99, cité par Labbé et Fabrykant.
- (59) LABBÉ (M.) et FABRYKANT (M.). — « Le Phosphore », 1933. Masson et Cie, édit., 376 p.
- (60) RANDOIN (L.) et LECOQ (R.). — Constitution d'un nouveau régime artificiel pour l'étude du rachitisme expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 97, 1277-1280.
- (61) RANDOIN (L.) et SIMONNET (H.). — Les Vitamines, 1932, 1 vol. Armand Colin, édit., Paris, 220 p.
- (62) LECOQ (R.) et VILLUIS (F.). — Action de quelques dérivés calciques sur l'évolution du rachitisme expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, 109, 539-543.
- (63) LENHERDT. — *Zeits. z. path. anat. u. z. allg. path.*, 1910, 47, 267, cité par Mouriquand et Leulier. *Presse Médicale*, 1931, n° 42.
- (64) SHIPPLEY (P.), PARK (E.), MAC COLLUM (E.) and SIMMONDS (N.). — *J. Hopkins. Hosp. Bull.*, 1922, 33, 216, cité par Lecoq et Villette. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 114, 1094-1097.
- (65) MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.), BERNHEIM (M.) et WEILL (L.). — Recherches sur les antifixateurs du calcium. *Presse Médicale*, 1931, 42.

- (66) MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.) et NOGIER. — Recherches sur la fixation du strontium dans le rachitisme expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **106**, 18-20.
- (67) ROCHE (A.). — Etude du bilan phosphoré chez le Rat soumis à un régime rachitigène, riche en calcium, en strontium ou en magnésium. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1932, **24**, n° 4, 634-644.
- (68) ROCHE (A.). — Inanition protéique, réserves azotées et constitution des protéines musculaires. *Th. Méd.*, Marseille, 1933. Patissier, édit., Trévoux, 265 p.
- Perte azotée et inanition protéique. *C. R. Ac. Sc.*, 1933, 197, 279.
- Etude comparée de la constitution chimique du muscle d'animaux normaux, morts d'inanition totale ou d'inanition protéique. *C. R. Ac. Sc.*, 1933, 197, 431.
- Contribution à l'étude des réserves azotées chez les animaux. *Arch. de Physiol. et de Phys. chim. biol.*, 1933, 933-938.
- Recherches sur la constitution des protéines musculaires. I. Inanition totale et inanition protéique. II. Constituants azotés du muscle chez les animaux morts par inanition protéique. III. Composition des protéines musculaires chez l'animal mort par inanition protéique et réserves azotées. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1934, **15**, 1290-1307 ; **16**, 257-270 et 270-285.
- Réserves azotées musculaires. *Arch. Skand.*, 1934, 102.
- (69) MARFAN. — Le rachitisme expérimental. *Presse Médicale*, 14 janvier 1925, p. 49.
- (70) SHEAR (M.) and KRAMER. — Composition of bones IV Primary calcification. *J. of biol. Chem.*, 1928, **79**, 147-160.
- (71) POLICARD (A.), PÉHU (M.) et BOUCOMONT (J.). — Sur quelques mécanismes histologiques dans le rachitisme chez l'enfant. *Presse Médicale*, 14 janvier 1935.
- (72) MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.) et WEILL (Mlle). — L'âge et les antifixateurs du calcium. *C. R. Acad. Sciences*, 1933, **194**, 1029.

- (73) MAIGNON. — Conception nouvelle sur la pathogénie du rachitisme. *Soc. Path. comparée*, 11 décembre 1928.
- (74) HESS (A.) et WEINSTOCK. — *Amer. Journ. of Dis. of Child*, 1928, n° 5, 34, cité par Marfan A. Le Rachitisme. *La Pratique médicale illustrée*, 1931, Doin et Cie, édit., Paris, 50 p.
- (75) REMOND (A.), SOULA (L. G.) et CAUQUIL (G.). — Rate et Rachitisme. *Bull. Acad. Méd.*, 100, 825-831.
- (76) MAC CANN (G.) et BARNETT (M.). — Experimental rickets in Rats IX. The distribution of phosphorus and calcium between the skeleton and soft parts of rats on rachitic and non rachitic diets. *Journ. biol. Chem.*, 1922, 54, 203-211.
- (77) SHOHL (A. T.), BENNETT (H. B.) et WEED (K. L.). — Rickets in Rats V. Comparaison of effects of irradiated ergosterol and cod liver oil. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1928, 25, 551.
- (78) GOLDBLATT (H.). — A study of the relation of the quantity of fat soluble organic factor in the diet to the degree of calcification of the bones and the development of experimental rickets in Rats. *Biochem. Journ.*, 1923, 17, n° 2, 298.
- (79) HESS (A.). — Rickets including osteomalacia and tetany. Lea and Febikerg, 1929.
- (80) STEENBOCK (H.), KLETZEIN (S. W.) and HALPIN (J.). — The reaction of the chicken to irradiated ergosterol and irradiated yeast as contrasted with natural vitamine D, and fish liver oils. *Journ. of. biol. Chem.*, 1932, 99, 249-265.
- (81) TEMPLIN (V.) and STEENBOCK (H.). — The effect of vitamine D on the teeth of Rats. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 217-225.
- (82) SCHULTZER (P.). — Le phosphore et le calcium minéral de Rats rachitiques sous l'influence de différents traitements. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, 18, 1002-1010.

- (83) BILLS (E. C.) et WIRICK (A. M.). — Long time feeding experiments with activated ergosterol. *Journ. biol. Chem.*, 1930, 86, 117-128.
- (84) HUME (E. M.), PICKERSGILL (M.) and GAFFIKING (M. M.). — The determination of vitamine D. The relationship between graded doses of a standard solution of vitamine D, administered to young rats on a rachitogenic diet and the ash content of their bones. *Bioch. Journ.*, 1932, 26, 488-505.
- (85) BOURDILLON (R. B.) and BRUCE (H. M.). — The détermination of vitamine D a comparaisn of radiographic and bone analysis in the estimation of vitamine D. *Bioch. Journ.*, 1932, 26, 506-520.
- (86) KLETZIEN (S.), TEMPLIN (V.), STEENBOCK (H.) and THOMAS (B.). — Vitamine D and the conservation of calcium in the adult. *Journ. of biol. Chem.*, 1932, 99, 265-281.
- (87) TEMPLIN (V.) and STEENBOCK (H.). — Vitamine D and the conservation of calcium in the adult. II The effect of vitamine D on calcium conservation in adult Rats maintained on low calcium diet. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 209-216.
- (88) BROWN (H. B.) and SHOHL (A. T.). — Rickets in Rats I The alterations of calcium and phosphorus metabolism of normal and ricketic Rats produced by irradiated ergosterol. *Journ. biol. Chem.*, 1930, 86, 245-261.
- (89) LIGHT (R. F.), MILLER (G.) and FREY (C. N.). — Studies on the effects of overdosage of vitamine D. *Journ. biol. Chem.*, 1929, 84, 487-500.
- (90) HESS (A. F.), BENJAMIN (H. R.) and GROSS (J.). — The source of excess calcium in hypercalcemic induced by irradiated ergosterol. *Journ. biol. Chem.*, 1931, 94, 1-8.
- (91) POLICARD et RAVAUULT. — Calcifications aortiques expérimentales obtenues par ingestion de doses toxiques d'ergostérine irradiée. *Soc. Méd. Hôpitaux de Lyon*, 11 février 1930.
- (92) MARFAN (A.) et DORLENCOURT (H.). — Accidents d'hypercalcémie consécutifs à des applications prolongées de

- rayons ultra-violet : entérolithes et concrétions calcaires sous-cutanées. *Le Nourrisson*, 1931, 49, 273-280.
- (93) MAC GOWAN (J. P.), CUMINGHAM (I. J.) and ANCHENNACHIC (D. W.). — On the fundamental nature of vitamine D action. *The bioch. Journ.*, 1931, 25, 1295-1303.
- (94) PALIT (C. C.) and DHAR (N. R.). — Induced oxydation of carbohydrate. *Journ. Phys. Chem.*, 1925, 29, 799-807.
- (95) PALIT (C. C.) and DHAR (N. R.). — Slow and induced oxydation of glycogene, lecithin, cholesterol formiate, oleate, stearate and some food materiels. *Journ. Phys. Chem.*, 1930, 34, 711-736.
- (96) PALIT (C. C.) and DHAR (N. R.). — *Journ. Phys. Chem.*, 1929, 32, 1263. Cité par DHAR N. R. *Journ. Phys. Chem.*, 1933, 36, 1846-1851.
- (97) CAHN (Th.) et BONOT (A.). — Recherches sur les variations des équilibres des constituants cellulaires. II. Variations au cours du jeûne. *Ann. de Phys. et Physico-Chim. Biol.*, 1928, 4, 485-530.
- (98) POLICARD (A.), PÉHU (M.), ROCHE (J.) et BOUCOMONT. — Répartition histologique de la phosphatase dans la zone d'ossification des os longs, chez l'enfant normal et rachitique. *Bull. Histol. appl.*, 1931, 8, 171-175.
- (99) FREUDENBERG und GYORGY, cité par J. SCHOEN. — *Th. Med.* Lyon, 1927. Bosc et Riou, édit., 196 p.
- (100) LEENHARDT et CHAPTAL. — Action des radiations ultra-violettes sur la valeur de la réserve alcaline au cours de l'enfance. *Presse Médicale*, 1927, 1016-1022.
- (101) SHOHL (A.), BROWN (H.), ROSE (C.), SMITH (D.) and COZARD (H.). — Rickets in Rats. The acide-base equilibrium of the blood in rickets and tetany. *Journ. biol. Chem.*, 1931, 92, 711.
- (102) FABRYKANT (N.) et LABBÉ (N.). — Le métabolisme phosphoré dans le diabète. *Annales de Méd.*, 1932, 31, 201-205.
- (103) JAVILLIER (M.) et CRÉMIEU (A.). — Phosphore nucléique. Bilans et rapports phosphorés chez quelques animaux entiers, en particulier des Invertébrés. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, 10, 338-341.

- (104) JAVILLIER (M.), ALLAIRE (M.) et ROUSSEAU (S.). — Phosphore nucléinique. Bilans et rapports phosphorés au cours de la croissance. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, 9, 778-784.
- (105) LEULIER (A.) et BÉRUARD (G.). — Phosphore total chez le jeune Rat. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 112, 483-485.
- (106) ROCHE (A.) et GARCIA (I.). — Sur la composition du nouveau-né (Rat) au cours de la première période du développement. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 112, 1686-1688, et
— Constance du rapport entre la taille du squelette et la masse active chez le Rat. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 117, 704-744.
- (107) STEARNS (G.) and WARWEG (E.). — Studies of phosphorus of blood. The partition of phosphorus in whole blood and serum. The serum calcium and plasma phosphatase from birth to maturity. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 102, 749-764.
- (108) GARCIA (I.). — Essai d'étude chimique du rapport squelette/masse active de l'organisme au cours de la croissance et de diverses carences. *Th. Pharm. Marseille*, 1935. Imprimerie Sémaphore; édit., 128 p.
- (109) COLE (V. V.). — A study on the phosphorus distribution in Rat striated muscle as influenced by age, diet and irradiated ergosterol. *Journ. biol. Chem.*, 1931, 92, Proc. XV.
-

TABLE DES MATIÈRES

Avant-Propos	9
--------------------	---

INTRODUCTION

I. <i>Composition chimique de l'os</i>	14
II. <i>Organisation du squelette</i>	30
III. <i>Rôle des sels du squelette dans le métabolisme</i>	35

RECHERCHES PERSONNELLES

**Première Partie. — Etude des différents processus
de l'ossification chez l'animal normal,
au moyen des variations du rapport Phosphore/Azote (P/N)
de l'os.**

ETUDE DE L'AZOTE, DU PHOSPHORE, DU RAPPORT P/N DE L'OS CHEZ LE RAT NORMAL AU COURS DE LA CROISSANCE ET A L'ÉTAT ADULTE	47
Résultats expérimentaux	48
I. Courbe de poids et croissance des ani- maux	48

II. Examens chimiques des os	50
1° Etude du poids des os	62
2° Etude de la teneur en eau	62
3° Etude de l'azote	63
4° Etude du phosphore	65
5° Etude du rapport P/N	66
Discussion des résultats	67
 Deuxième Partie. — Etude des troubles de l'ossification chez le Rat carencé au moyen des variations du rapport Phosphore/Azote (P/N) de l'os.	
I. GÉNÉRALITÉS SUR LA DÉMINÉRALISATION ET LES DYS- TROPHIES DE L'OS	77
A. <i>Différents facteurs alimentaires des dystro- phies osseuses et de la déminéralisation de l'organisme</i>	78
B. <i>Régimes susceptibles de provoquer des dys- trophies osseuses ou une déminéralisation.</i> ..	85
1° Choix et préparation d'un régime déséqui- libré en sels et avitaminé	86
a) Régime utilisé pour les Rats en crois- sance	86
b) Régime utilisé pour les Rats préadul- tes et adultes	88
2° Choix et préparation d'un régime de dénu- trition	92
II. ETUDE DU PHOSPHORE, DE L'AZOTE ET DU RAPPORT P/N DE L'OS CHEZ LE RAT EN CROISSANCE SOU- MIS A UN RÉGIME RACHITIGÈNE	94

Expérience à l'aide du régime Randoïn et Lecoq pur	95
I. Courbe de poids	96
II. Examen radiographique et anatomo-macroscopique	99
III. Examens chimiques des os	105
1° Etude du poids des os	105
2° Etude de la teneur en eau	106
3° Etude de l'azote	108
4° Etude du phosphore	111
5° Etude du rapport P/N	113
Expériences à l'aide du régime RL additionné d'un excès de phosphore	116
I. Croissance des animaux	116
II. Examen radiographique	117
III. Examens chimiques	117
1° Etude du poids des os	117
2° Etude de la teneur en eau	119
3° Etude de l'azote	119
4° Etude du phosphore	119
5° Etude du rapport P/N	119
Discussion des résultats	120
III. ETUDE DE L'AZOTE, DU PHOSPHORE ET DU P/N DE L'OS CHEZ LE RAT PRÉADULTE OU ADULTE SOUMIS A UN RÉGIME DÉSÉQUILIBRÉ EN SELS ET AVITAMINÉ	125
Marche des expériences	126
I. Courbe de poids	127
II. Examen anatomo-macroscopique	128

III. Examens chimiques	128
1° Etude du poids des os	129
2° Etude de la teneur en eau	131
3° Etude de l'azote	131
4° Etude du phosphore	131
5° Etude du rapport P/N	135
Discussion des résultats	136
IV. ETUDE DU PHOSPHORE, DE L'AZOTE ET DU RAPPORT P/N DE L'OS CHEZ LE RAT RECEVANT UN RÉGIME DÉSÉQUILIBRÉ EN SELS ET DE LA VITAMINE D...	138
A. <i>Etude sur les Rats en croissance</i>	139
Marche des expériences	139
I. Examen radiographique et histo-macros- copique	140
II. Examens chimiques	141
Discussion des résultats	146
B. <i>Etude sur les Rats préadultes et adultes</i> ...	150
Marche des expériences	150
I. Courbe de poids	150
II. Examen anatomique	153
III. Examens chimiques	154
1° Etude du poids des os	155
2° Etude de la teneur en eau	155
3° Etude de l'azote	157
4° Etude du phosphore	159
5° Etude du rapport P/N	159
Discussion des résultats	163

V. ETUDE DE L'AZOTE, DU PHOSPHORE ET DU RAPPORT P/N DE L'OS, CHEZ LE RAT SOUMIS A L'INANITION PROTÉIQUE	168
A. <i>Rats soumis à un régime déséquilibré en azote</i>	169
Marche des expériences	169
I. Courbe de poids	170
II. Examens chimiques	171
1° Etude du poids des os	171
2° Etude de la teneur en eau	175
3° Etude de l'azote	176
4° Etude du phosphore	180
5° Etude du rapport P/N	180
Discussion des résultats	185
B. <i>Rats soumis à un régime déséquilibré en azote et en phosphore</i>	186
I. Courbe de poids	187
II. Examen anatomo-macroscopique	187
III. Examens chimiques	187
VI. DISCUSSION GÉNÉRALE DE LA DEUXIÈME PARTIE...	190

**Troisième Partie. — Etude du phosphore total
chez les Rats normaux ou soumis à différentes carences.**

I. ETUDE DE LA TENEUR EN PHOSPHORE DU RAT NOR- MAL AU COURS DE LA CROISSANCE ET A L'ÉTAT ADULTE	197
A. Technique	199

B. Résultats expérimentaux	200
C. Discussion des résultats	203
II. ETUDE DE LA TENEUR EN PHOSPHORE DU RAT AU COURS DE DIFFÉRENTES CARENCES	205
A. <i>Phosphore total chez le Rat soumis à un régime déséquilibré en sels et avitaminé</i>	206
I. Animaux en croissance	206
II. Animaux préadultes et adultes	209
B. <i>Phosphore total chez les animaux recevant un régime déséquilibré en sels et de la vitamine D</i>	211
I. Animaux en croissance	211
II. Animaux adultes et préadultes	213
C. <i>Phosphore total chez les animaux recevant un régime déséquilibré en azote</i>	214

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Résumé	221
Conclusions	227
Bibliographie	231

